

Aus der Kinderklinik
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. U. Köttgen

ÜBER DIE DYNAMIK
DER MORPHOLOGISCHEN LEUKOZYTEN-DEGRADATION
IM KONSERVIERTEN HARN
UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH VERSCHIEDENE
EIGENSCHAFTEN DES SUSPENSIONSMEDIUMS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Ursula John-Grafe
aus Hamburg

Mainz 1972



Dekan: Prof. Dr. K.H. Bäbler
Referent: Prof. Dr. E. Straub
Korreferent: Prof. Dr. U. Köttgen

Tag der mündlichen Prüfung: 25.1.1973

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

EINLEITUNG	1
DIE STABILITÄT DER LEUKOZYTEN IM URIN	3
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	10
A. MATERIAL UND METHODEN	10
1. Urinproben	10
2. Zitratpufferlösung nach SØRENSEN	11
3. Versuchsansatz	12
4 a) Leukozytenzählung	14
b) Bakteriologische Untersuchung	16
c) pH-Wert-Bestimmung	16
d) Osmolarität	16
5. Statistische Methoden	17
a) Vorzeichen-Rang-Test nach WILCOXON	17
b) Multiple lineare Regression	17
c) Einfache lineare Regression	17
B. ERGEBNISSE	18
1. Einfluß der Wasserstoffionen- konzentration (pH-Wert), der Osmolarität sowie der Temperatur im Urin auf die Leukozytenpersistenz	18
a) Fälle mit konstantem Harn-pH-Wert	19
b) Fälle mit ansteigendem Harn-pH-Wert	32
c) Einfluß der Osmolarität	44
2. Auswertung der bakteriologischen Untersuchungen	50
3. Ergebnisse der übrigen Konstituenten im Harn	53
DISKUSSION	63
ZUSAMMENFASSUNG	71
LITERATURVERZEICHNIS	73



Digitized by the Internet Archive
in 2026

E I N L E I T U N G

Die quantitative Messung der Leukozytenausscheidung im Urin ist heute eine unentbehrliche Untersuchungsmethode zur Beurteilung des Harnsystems, insbesondere im Hinblick auf entzündliche Veränderungen.

Sie ermöglicht mit geringem Aufwand an Zeit und Einrichtung und großer Treffsicherheit die Erfassung und Verlaufskontrolle einer Harnwegsinfektion.

Jede Harnwegsinfektion im Kindesalter muß zumindest fakultativ als Pyelonephritis aufgefaßt, klar diagnostiziert und entsprechend intensiv behandelt werden (33). Die Erkennung und Bemessung einer Leukozyturie - als einem Hauptkriterium einer akuten oder chronischen Pyelonephritis - mittels einer zuverlässigen Methode ist also von entscheidender Bedeutung.

Die Zählung der Leukozyten im unzentrifugierten, frischen Urin in einer Blutkörperchen-Zählkammer entsprechend der Methode von STANSFELD u. WEBB (39) hat sich als besonders zuverlässig erwiesen (8, 9, 23, 30, 34, 40, 45).

Außer von der angewandten Methode (Harnsammel-, Zähltechnik) ist die Aussagekraft des Ergebnisses wesentlich abhängig von dem Zeitintervall, das zwischen der Entleerung und der Untersuchung des Urins verstreicht.

Infolge mehr oder weniger rasch fortschreitender Zytolyse kommt es zum Leukozytenverlust, und zwar besonders im alkalischen und/oder hypotonen Urin (19, 40, 42). Auch die Temperatur des Urins spielt eine nicht unwesentliche Rolle bei der Überlebensrate der Leukozyten im Urin (42).

Es lag nahe, auf Grund der Ergebnisse solcher Untersuchungen über die Abhängigkeit der Leukozytenpersistenz im Urin von pH-Wert, Osmolarität und Temperatur, den Versuch zu unternehmen, disintegrierende Einflüsse durch Pufferung und Kühlung sowie Erhöhung der Ionenstärke auszuschalten oder zu mindern, um so eventuell die Zeitspanne zu verlängern, innerhalb deren nach Uringewinnung der Harn ohne Verlust an Information untersucht werden kann.

Dieses Problem sollte durch systematische Variation der Parameter bearbeitet werden, ausgehend von nativen Patientenurinen, um schädigende Effekte der Isolierungsprozedur zu vermeiden, ausgerichtet auf die eventuelle praktische Anwendung.

DIE STABILITÄT DER LEUKO- ZYTEN IM URIN

Wie aus klinischen und autoptischen Statistiken **hervorgeht**, ist die Pyelonephritis die weitaus **häufigste Nierenkrankheit** (2, 8, 11, 14). Oft verläuft **insbesondere** die chronische Pyelonephritis klinisch ausgesprochen symptomarm, so daß sie erst spät oder überhaupt nicht intra vitam erkannt wird. Bis vor wenigen Jahren wurden mehr als zwei Drittel aller Fälle erst bei der Obduktion aufgedeckt (2, 8, 14, 34).

Mit den heute zur Verfügung stehenden Mitteln ist es indes möglich, die Diagnose einer akuten Pyelonephritis stets, die der chronischen PN in etwa 90% der Fälle bereits im Frühstadium zu stellen (8). Dabei geben auch bei uncharakteristischer Symptomatik einfache Untersuchungen wie z.B. die Harnanalyse dem Arzt erste orientierende oder sogar die entscheidenden Hinweise.

Die sorgfältige zytologische Harnuntersuchung ist für die Diagnostik der Nieren- und Harnwegserkrankungen, insbesondere der Pyelonephritis, jedenfalls unerlässlich. Neben signifikanter Bakteriurie und Leukozytenzyndriurie ist die pathologische Leukozyturie der bedeutsamste und häufigste Harnbefund bei der Pyelonephritis (7, 8, 14, 20, 21, 34, 39).

Auch vom gesunden Menschen werden Leukozyten mit dem Urin ausgeschieden, normalerweise bis 10 Leukozyten pro mm³ Urin (8, 19, 34, 39). Werte zwischen 10 und 20 Zellen pro mm³ stellen verdächtige und kontrollbedürftige Befunde dar. Eine Leukozyturie von mehr als 20 Leukozyten pro mm³ wird allgemein als pathologisch angesehen (8, 30, 34, 39, 45).

Ob eine Leukozyturie also noch physiologisch oder schon pathologisch ist, kann nur mit quantitativen Methoden entschieden werden (22, 29, 34).

Die Sedimentuntersuchung zentrifugierten Urins mit Zählung der Zellen im Gesichtsfeld ist dazu nicht geeignet. Das auf einen Objektträger aufgebraachte "Urin-Konzentrat" kann nicht als repräsentativer Anteil des Nativharns betrachtet werden. Durch Vergleich der Sediment- mit der Zählkammermethode konnte RUPP (34) zeigen, daß einer Maximalzahl von 2 Leukozyten im Gesichtsfeld in fast 60% der Untersuchungen bereits eine Leukozytenzahl von mehr als 10 pro mm^3 entsprach. Das Vorkommen von maximal 8 Leukozyten i. G. korrespondierte in 65% der Analysen mit einer Leukozytenzahl zwischen 0 und 230 pro mm^3 bei der Kammerzählung.

Gerade bei diskreten und minimalen Zellzahlbefunden, wie sie häufig bei der chronischen Pyelonephritis anzutreffen sind, besteht bei der Sedimentmethode die Gefahr, eine chronische Niereninfektion zu übersehen und damit dem Pat. die Behandlung vorzuenthalten.

Aus der Kenntnis der Fehlerquellen der älteren Methoden war man - zunächst in Anlehnung an ADDIS - dazu übergegangen, die Leukozyten quantitativ zu erfassen.

Die Methode nach ADDIS (1) bestimmt die "Exkretionsrate", d. h. die Zahl der ausgeschiedenen Leukozyten bzw. Formelemente pro 24 Stunden.

Nach der Originalmethode dauert die Urinsammelperiode 12 Stunden. Die quantitative Zählung der Leukozyten zur Bestimmung der Exkretionsrate geschieht in der Fuchs-Rosenthal-Kammer nach Zentrifugieren einer errechneten 12-Minutenportion aus dem Sammelurin.

In der Modifikation nach HAMBURGER u. a. reduziert sich die Sammelzeit auf 3 Stunden (3), und es wird anschließend der unzentrifugierte Harn in der Fuchs-Rosenthal-Kammer untersucht (8, 19, 34).

Als Routinemethode ist die ADDIS-Zählung, insbesondere in der Kinderheilkunde, wenig geeignet. Unter den Nachteilen dieser Methode ist die mögliche Zerstörung von Zellen während der Sammelperiode die wichtigste und folgenschwerste.

In den letzten Jahren hat sich mehr und mehr die Zählung des frischen, unzentrifugierten Harns in einer Zählkammer durchgesetzt (8, 10, 34). Sie hat sich als die schnellste und genaueste Methode zur quantitativen Erfassung der ausgeschiedenen Formelemente im Urin erwiesen. Ermittelt wird die ausgeschiedene Leukozytenzahl pro mm^3 . 1893 wurde sie erstmals von POSNER angegeben, geriet dann in Vergessenheit und wurde erst 1953 wieder von STANSFELD und WEBB aufgegriffen und bekanntgemacht (8, 34, 39, 45).

Die geringe durchschnittliche Fehlerbreite der Kammerzählung (RUPP: unter 10% (34), LITTLE: bis 12,2% (25)) erlaubt die Festlegung exakter Grenzwerte zwischen physiologischer und pathologischer Leukozyturie und ermöglicht die Erkennung und zuverlässige Verlaufskontrolle auch der symptomarmen chronischen Harnwegsinfektionen (14).

Von den meisten Autoren wird die zytologische und bakteriologische Untersuchung des Harns unmittelbar an die Harngewinnung, d. h. spätestens innerhalb einer Stunde gefordert (5, 10, 14, 19, 23, 25, 28, 38, 42, 44, 45).

Bei längerem Stehen kommt es einmal zu einer rapiden Vermehrung von infizierenden Bakterien; zum anderen tritt häufig eine Zytolyse insbesondere der Leukozyten ein. So enthält eventuell bei einer sicheren Harnwegsinfektion ("signifikante Bakteriurie") der Urin kurze Zeit nach Entleerung nur wenige oder sogar keine Zellen mehr, insbesondere wenn der Erreger *Proteus* ist (12, 42, 45).

Die Persistenz weißer Blutzellen im Urin hängt von verschiedenen Gegebenheiten ab. Die wesentlichsten sind, wie erwähnt, der pH-Wert, die Temperatur und die Osmolarität des Urins.

Einfluß des pH-Wertes

Ist der Urin von vorneherein alkalisch oder steigt der pH-Wert bei längerem Stehenlassen, so werden die Leukozyten mehr oder weniger schnell zerstört (19, 45). STANSFELD(40) gibt an, daß bei pH 8,4 die Mehrzahl der weißen Zellen im Urin innerhalb weniger Minuten verschwindet.

THIGER u. SMITH (42) verbrachten aus Urin gewonnene Leukozytensuspensionen bei konstanter Temperatur (21° C, d.h. Zimmertemperatur) und konstanter Osmolarität (300 mosmol/l) in Pufferlösungen von verschiedenem pH. Bei pH 8,0 fiel die Zellzahl in 2 - 3 Stunden um 50% ab, während bei pH 3,0 nur eine geringe Veränderung der Zellzahl eintrat. Bei pH 7,0 war nach 2 Stunden die Zellzahl um 25% abgesunken.

GNARPE und EDEBO (12) sahen in ihren Untersuchungen einen kontinuierlichen Abfall der Leukozytenzahl bei spontanem Anstieg des Urin-pH. Bei pH 8,0 waren nach einer Stunde schon ca. 90% der Leukozyten zerstört.

Der pH-Wert bzw. die Änderung des pH in einem bei Zimmertemperatur aufbewahrten Urin ist abhängig von der Art des infizierenden Keims. Der stärkste pH-Anstieg wird bei solchen Keimen verzeichnet, die Urease produzieren. Urease katalysiert die Spaltung des Harnstoffs in CO_2 und NH_3 ; das führt zu zunehmender Alkalisierung des Harns. Insbesondere Keime der Proteusgruppe sind stark ureaseaktiv. Bei signifikanter Bakteriurie, also bei einer Keimzahl von mehr als $10^5/\text{ml}$, wird (nach E. coli) Proteus als zweithäufigster Erreger einer PN gefunden. BROD (2) gibt für Proteus 18% an, GEEKIE (10) 20%, KIENITZ (17) 11 - 15%.

Wird ein z. B. mit Proteus infizierter Harn nicht frisch untersucht, so kann es vorkommen, daß trotz signifikanter ~~W~~ Bakteriurie keine Leukozyten mehr im Urin vorhanden sind (40, 42).

Einfluß der Temperatur

Es wird allgemein angenommen, daß Aufbewahrung des Urins bei Kühlschranktemperatur (4°C) sowohl das Bakterienwachstum als auch den Zerfall eventuell vorhandener Zellen, insbesondere Leukozyten, verhindert oder verlangsamt. Mc INTYRE und MOU (28) fanden bei vergleichenden Untersuchungen, daß Leukozyten und Erythrozyten im gekühlten, sauren Urin ihre Morphe und annähernde Zahl während 12 bis 14 Tagen behielten (mit Ausnahme von Urinproben niedriger Zellzahl, bei denen nach 5 Tagen keine Zellen mehr nachweisbar waren).

TRIGER und SMITH (42) führten vergleichende Zellzählungen mit aus Urin gewonnenen Leukozytensuspensionen (bei pH 7,0 und einer Osmolarität von 300 mosmol/l) durch, die sie bei 4° C, 21° C und 37° C aufbewahrten. Gegenüber der Herabsetzung der Zellzahl bei 21° C, die in den ersten beiden Stunden bis zu 25% betrug, war der Zellverlust bei 4° C verlangsamt (Zellabfall: 10%) und bei 37° C beschleunigt (Zellabfall: 40%).

Nicht immer aber verhindert Kühlung die Reduktion der Leukozytenzahl im Urin. Ist dieser alkalisch mit niedriger Osmolarität, so kommt es auch bei 4° C in 2 1/2 Stunden zu einer Verminderung der weißen Zellen um 50%. Bei Isotonie und pH 7,0 dauert es 24 Stunden, bis die Zellzahl um 50% gesunken ist (42). Die Verhältnisse sind jedenfalls unübersichtlich und das Ausmaß der "konservierenden" Wirkung für den Einzelfall nicht kalkulierbar.

Einfluß der Osmolarität

Der Beobachtung, daß sich Leukozyten im konzentrierten Urin länger halten als im niedriggestellten (44), gingen TRIGER und SMITH (42) nach, indem sie - bei sonst konstanten Bedingungen (Temperatur 21° C, pH 7,0) - Leukozyten in Pufferlösungen mit verschiedenen Osmolaritäten suspendierten.

In hypotoner Lösung (Osmolarität 50 mosmol/l) degenerierten und verschwanden die Leukozyten sehr schnell: in zwei Stunden fiel die Zellzahl auf 40% des Ausgangswertes. Bei einer Osmolarität von 300 mosmol/l lag der Zellverlust bei 20% in 2 Stunden. Bei 1200 mosmol/l blieb die Zellzahl in 2 Stunden praktisch gleich; erst nach 22 Stunden war ein Abfall von 20% zu verzeichnen.

Im Nativurin (wie er als Ausgangsurin in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde) liegen kombinierte Bedingungen vor. Versuche, den - möglicherweise - leukozytenhaltigen Urin für die klinische Praxis unter optimale Bedingungen zu stellen, die es erlauben, die Zellzahl auch nach längerem Intervall noch exakt zu bestimmen, müssen dahin zielen, den pH-Wert sauer, die Osmolarität hoch und die Temperatur niedrig zu halten.

In der vorliegenden Arbeit wird mithin die Frage gestellt:

Kann ein Leukozytenabfall im Nativurin verzögert oder verhindert werden durch den Zusatz einer sauren, hyperosmolaren Pufferlösung und/oder durch Kühlung des Urins?

E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

A. M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

1. U r i n p r o b e n

Versuchspersonen waren 10 Jungen und 16 Mädchen im Alter von 5 Monaten bis 11 Jahren, die wegen zumeist urologisch bedingter akuter oder chronischer Pyelonephritis in der nephrologisch-urologischen Abteilung der Universitätskinderklinik Mainz stationär - konservativ und/oder operativ - behandelt wurden (Tab.1).

Tabelle 1

Grunderkrankung der Probanden

	Zahl d. Pat.
"Idiopathische" PN	
akut	4
chronisch	3
urologische Veränderungen mit PN	
Doppelnieren + Doppelureter	2
subpelvine Ureterstenose	3
praevesikale Ureterstenose	3
vesiko-ureteraler Reflux	6
Urolithiasis	1
neurogene Blasenfunktionsstörung	1
andere	3
gesamt	26

Von diesen Probanden wurden an verschiedenen Tagen insgesamt 100 Urinproben entnommen und sofort in der nachfolgend beschriebenen Weise aufbereitet und weiter untersucht.

Es handelte sich um im Laufe des Vormittags gewonnenen

Spontanurin:	10	Proben
Mittelstrahlurin:	63	"
Katheterurin:	14	"
Blasendauer-		
katheterurin:	11	"
Splinturin:	2	"
	100	"

Vor der spontanen Miktion wurde das Genitale sorgfältig mit 1%iger Oxyzyanatlösung gereinigt. Der Urin wurde entweder unmittelbar in einem sterilen Reagenzglas aufgefangen oder in ein sorgfältig gereinigtes Gefäß entleert und von dort in ein Reagenzglas umgefüllt.

2. Zitratpufferlösung nach SØRENSEN

Der für unsere Zwecke modifizierte Zitratpuffer nach SØRENSEN (6) setzt sich zusammen aus

405 ml Stammlösung I
+ 595 ml Stammlösung II
+ 65 g NaCl

Die Stammlösung I ist eine 0,1 molare Dinatriumzitratlösung. Zu ihrer Herstellung werden 10,5 g Zitronensäure in 100 ml 1 n - NaOH gelöst und auf 500 ml aufgefüllt.

Die Stammlösung II ist 0,1 n - HCL.

Die von uns verwendete Pufferlösung hat einen pH-Wert von 3 und eine Osmolarität von 2100 mosmol/l.

3. Versuchsansatz

Unmittelbar im Anschluß an die Uringewinnung wurden von jeder der 100 Proben je zwei Untersuchungsreihen A und B hergestellt, die jeweils wiederum in je zwei Reihen (A_Z und A_4 bzw. B_Z und B_4) geteilt wurden.

a) Reihe A

Bei dieser handelt es sich um unzentrifugierten Nativurin. Im Nativurin wurde sofort der Leukozytengehalt pro mm^3 in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer ermittelt und der pH-Wert bestimmt. Anschließend wurden 2 - 4 ml des Nativurins für die nachfolgenden, in bestimmten Zeitabständen vorgenommenen Leukozytenzählungen und entsprechende Analysen bei Zimmertemperatur ($21 - 22^\circ \text{C}$) aufbewahrt (Reihe A_Z). Für die Reihe A_4 wurden weitere 2 ml Nativharn im Kühlschrank bei 4°C gehalten.

b) Reihe B

Die Reihe B bestand aus einer Mischung von Nativharn und der oben beschriebenen Zitratpufferlösung im Verhältnis 1:1.

Zur Herstellung der Reihe B wurden vom frisch gewonnenen, gut durchgeschüttelten Urin 2 ml mit einer 2 ml-Einmalspritze entnommen und in einem sterilen Reagenzglas mit 2 ml der Pufferlösung (Zimmertemperatur) gemischt (Reihe B_Z). Sofort wurden auch von dieser Probe der Leukozytengehalt pro mm^3 bestimmt sowie das pH und der Urin B_Z bei Zimmertemperatur für die weiteren Bestimmungen zurückgestellt. Weitere 2 ml Nativurin wurden mit 2 ml Zitratpuffer von 4°C gemischt und für die nachfolgenden Untersuchungen bei 4°C im Kühlschrank belassen (Reihe B_4).

Für konsekutive Untersuchungen standen also folgende Harnproben bereit:

- Reihe A_Z = Nativurin - bei Zimmertemperatur
- Reihe A₄ = Nativurin - bei 4° C
- Reihe B_Z = Urin im Verhältnis 1:1 mit Pufferlösung gemischt - bei Zimmertemp.
- Reihe B₄ = Urin im Verhältnis 1:1 mit Pufferlösung gemischt - bei 4° C.

Nach der Aufarbeitung des Urins wurden bei sämtlichen Urinen A und B folgende Untersuchungen durchgeführt:

Leukozytenzählung pro mm³ Urin (modifizierte Zählkammermethode nach STANSFELD und WEBB)

Bakteriologische Untersuchung (qualitative und quantitative Keimbestimmung)

Urin-pH (approximativ mit Merck-Spezial-Indikatorpapier)

Osmolarität ("Halbmikro-Osmometer" KNAUER, Berlin)

Eiweiß (Albustix-Methode, qualitativ)

Glucose (Clinistix-Methode, qualitativ)

Photometrische Analysen
(Mikrolitersystem "Eppendorf"):

Harnstoff (Methode BERTHELOT)

Kreatinin (Methode POPPER, MANDEL und MAYER -
JAFFE' sche Reaktion)

anorganisches Phosphat (Methode FISKE-SUBBAROW)

flammenphotometrische Bestimmungen ("Eppendorf"):

Natrium

Kalium

Calcium

elektrochemische Bestimmung ("EEL" Chloridmeter):

Chlorid

Da Harnstoff, Kreatinin und sämtliche Elektrolyte aus zeitlichen Gründen erst nach Abschluß der Leukozytenzählungen aller 100 Versuchsserien bestimmt werden konnten, wurde der Nativharn jeweils nach Beendigung der über 8 Stunden laufenden Zellzählung eingefroren und zur Bestimmung der oben genannten Substanzen bei Zimmertemperatur aufgetaut.

4a) Leukozytenzählung

Die Zählung der Leukozyten in den Urinen

A_Z , A_4 , B_Z , B_4 geschah in den folgenden zeitlichen Abständen nach der Harngewinnung:

sofort	$A_{Z,0}$	-	$B_{Z,0}$	-
nach 1 Stunde	$A_{Z,1}$	$A_{4,1}$	$B_{Z,1}$	$B_{4,1}$
nach 2 Stunden	$A_{Z,2}$	$A_{4,2}$	$B_{Z,2}$	$B_{4,2}$
nach 4 Stunden	$A_{Z,4}$	$A_{4,4}$	$B_{Z,4}$	$B_{4,4}$
nach 8 Stunden	$A_{Z,8}$	$A_{4,8}$	$B_{Z,8}$	$B_{4,8}$

Die Zählungen wurden nach der modifizierten Methode von STANSFELD u. WEBB entsprechend der Liquorzellzählung in einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer durchgeführt.

Aus dem gut aufgeschüttelten Urin wurde mit einem Holzstäbchen ein Tropfen in die Zählkammer gegeben. Nach wenigen Sekunden erfolgte die Zählung der Zellen in 4 großen diagonal angeordneten Quadranten.

Zellen, die die linke und/oder obere innere Begrenzungslinie berührten, wurden so beurteilt, als lägen sie im Quadrat; solche, die die rechte und/oder untere innere Begrenzungslinie berührten, wurden ausgeschlossen.

Eine Kammerfüllung repräsentiert ein Volumen von $3,2 \text{ mm}^3$ bei einer Grundfläche von 4 mm mal 4 mm , die in 16 große Quadrate aufgeteilt ist. Um den Zellgehalt in 1 mm^3 zu erhalten, wurde die in vier großen Quadraten ermittelte Leukozytenzahl auf folgende Weise umgerechnet:

$$\text{Leukozyten/mm}^3 = \frac{\text{Zellzahl mal 4}}{3,2}$$

War der Zellgehalt der Probe niedrig, so wurden alle 16 großen Quadrate ausgezählt und der Zellgehalt zur Bestimmung in 1 mm^3 Urin durch 3,2 dividiert.

Bei den Proben B_Z und B_4 , bei denen der Urin durch die Pufferung im Verhältnis 1:1 verdünnt worden war, mußte der pro mm^3 Gemisch berechnete Zellgehalt mit 2 multipliziert werden, um die Leukozytenzahl in 1 mm^3 unverdünntem Urin zu erhalten.

Die mikroskopische Zählung geschah mit einer 40fachen Vergrößerung.

In Übereinstimmung mit TRIGER und SMITH (42) wurden im Verlauf der 8stündigen Untersuchungsserie nur solche Leukozyten gezählt, die einen deutlich erkennbaren Kern und Zytoplasma mit anscheinend intakter Zellmembran aufwiesen und deren Durchmesser nicht über 15μ lag.

4b) Bakteriologische Untersuchung

Bei 35 der 100 Urinproben wurden außer den zytologischen und laborchemischen auch bakteriologische Untersuchungen der Keimart und des Keimgehaltes durchgeführt. Verwendung fand ein quantitatives Ausstrichverfahren (8, 24, 27).

Außerdem wurde vom Nativharn ein Direktpräparat angefertigt, nach GRAM gefärbt und bei positivem bakterioskopischem Befund eine Resistenzbestimmung angesetzt.

4c) pH-Wert-Bestimmung

Das pH wurde von jeder einzelnen Urinprobe der Reihen A_Z, A₄, B_Z und B₄ mittels Spezialindikatorpapier "Merck" bestimmt, und zwar ebenfalls nach dem unter 4a angegebenen Zeitplan.

4d) Osmolarität

Zur Messung der Osmolarität (Gefrierpunkterniedrigung) diente der "Halbmikro-Osmometer" der Fa. Dr. Ing. Knauer, Berlin.

Die Osmolarität wurde nur von den Proben A_{Z,o} und B_{Z,o} (Nativurin und gepufferter Urin bei Zimmertemperatur, sofort nach Abgabe und Aufarbeitung des Harns) bestimmt.

5. Statistische Methoden

Die rechnerische Auswertung des Untersuchungsgutes geschah maschinell über EDV.

a) Vorzeichen-Rang-Test nach WILCOXON

In den Harnserien A_2 , A_4 , B_2 , B_4 wurden Mittelwerte und Standardabweichungen der Ergebnisse berechnet (4). Da sich dabei keine Normalverteilung der Grundgesamtheit ergab, wurden die Signifikanzprüfungen innerhalb einer Gruppe und zwischen verschiedenen Gruppen mit Hilfe des Vorzeichen-Rang-Tests nach WILCOXON für Paardifferenzen durchgeführt. Die Testergebnisse wurden mittels der bei PFANZAGL II, S. 293 (52) tabellierten Sicherheitsgrenzen beurteilt. Bei zweiseitiger Anwendung geben die dort aufgeführten Werte Irrtumswahrscheinlichkeiten für 1% bzw. 5% an.

Ist die Irrtumswahrscheinlichkeit klein ($p \leq 1\%$), so sprechen wir von Signifikanz (++), ist sie größer ($1\% \leq p \leq 5\%$), so sprechen wir von "statistisch auffällig" (+).

b) Multiple lineare Regression

Die Untersuchung der Beziehung zwischen Leukozytenzahl und Ausgangsosmolarität, in gleichzeitiger Bezugsetzung zum pH-Wert zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten, wurde mit Hilfe der multiplen linearen Regressionsanalyse durchgeführt. Die Signifikanzprüfung wurde unter Berücksichtigung der Anzahl der unabhängigen Variablen mittels der bei JBERLA (43) aufgeführten Tafel B vorgenommen.

c) Einfache lineare Regression

Die Auswertung aller weiteren Harnkonstituenten geschah mittels der einfachen linearen Regressionsanalyse. Zur Signifikanzprüfung dienten die Geigy-Tabellen (6).

B. ERGEBNISSE

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration (pH-Wert), der Osmolarität sowie der Temperatur im Urin auf die Leukozytenpersistenz

Die Leukozytenzahlen pro mm^3 lagen bei den Nativurinen ($A_{Z,O}$) zwischen 3 und 5696, bei den Urinen der "Puffer"-Reihe ($B_{Z,O}$) zwischen 4 und 5376 (korrigiert hinsichtlich der Verdünnung 1:1).

Das pH des Nativurins $A_{Z,O}$ war sofort nach Entleerung im Mittel 6,5; es wurden als

Minimalwert pH 4,8 , als

Maximalwert pH 8,2 gemessen.

In den gepufferten Urinproben $B_{Z,O}$ (Mittelwert pH 4,1) betrug der

Minimalwert pH 3,8 , der

Maximalwert pH 6,4.

Bei 33 Nativurinen kam es - bei Zimmertemperatur - zu einem Ansteigen des pH-Wertes innerhalb der folgenden 4 Stunden; in 67 Proben blieb der pH-Wert konstant.

Es wurden deshalb zur Auswertung der Ergebnisse zwei große Klassen gebildet:

I. : Fälle mit gleichbleibendem pH (n=67)

II.: Fälle mit steigendem pH (n = 33)

Nach dem Schweregrad der Infektion wurde zudem in jeder der beiden Klassen I und II eine Unterteilung in 3 Gruppen entsprechend der Leukozytenzahl getroffen:

- 1.) 1 - 100 Leukozyten pro mm^3
- 2.) 101 - 500 Leukozyten pro mm^3
- 3.) mehr als 500 Leukozyten pro mm^3

Die Osmolarität lag beim Nativurin zwischen 105 und 980 mosmol/l (Mittelwert 527 mosmol/l), im gepufferten Urin zwischen 740 und 1250 mosmol/l (Mittelwert 1278 mosmol/l).

a) Fälle mit konstantem Harn-pH-Wert

In den Tabellen 2 - 13 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Leukozytenkonzentrationen, der pH-Werte und der Osmolarität für die einzelnen Gruppen der 67 Fälle mit konstantem pH-Wert aufgeführt.

In jeder der nach Leukozytenzahl zusammengefaßten Gruppen findet sich die Einteilung in die Reihen A_Z , B_Z , A_4 , B_4 entsprechend den oben geschilderten Untersuchungsbedingungen wieder.

Dabei stellen alle

Tabellen Reihe " IA_Z " die Mittelwerte der Leukozytenkonzentration und des pH-Wertes von n Nativurinen bei Zimmertemperatur, gemessen sofort (= 0), 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Gewinnung dar;

Tabellen Reihe " IB_Z " die Mittelwerte der Leukozytenkonzentration und des pH-Wertes von n gepufferten Urinen bei Zimmertemperatur, gemessen 0, 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Gewinnung;

Tabellen Reihe " IA_4 " die Mittelwerte der Leukozytenkonzentration und des pH-Wertes von n Nativurinen bei 4° C, gemessen 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Gewinnung;

Tabellen Reihe " IB_4 " die Mittelwerte der Leukozytenkonzentration und des pH-Wertes von n gepufferten Urinen bei 4° C, gemessen 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Gewinnung.

Es bedeuten

t = Zeit in Stunden

n = Zahl der Einzelwerte

$\bar{x}$ = Mittelwert

s = Standardabweichung

Die Ergebnisse der Signifikanzprüfungen innerhalb der Reihen A_Z , B_Z , A_4 , B_4 - es wurde die Signifikanz der Veränderungen der Leukozytenzahl zu den Zeitpunkten 1, 2, 4 und 8 Stunden gegenüber dem Nullwert mit dem Rangtest nach WILCOXON (s.S.17) getestet - sind in Tabelle 14 aufgezeichnet.

"+" steht für: statistisch signifikant ($p \leq 1\%$)

"+" " " : statistisch auffällig ($1\% \leq p \leq 5\%$)

"-" " " : statistisch kein Unterschied
zu sichern

Im einzelnen wurden folgende Feststellungen getroffen:

Reihe " IA_Z ":

Leukozyten:

Im bei Zimmertemperatur untersuchten Nativurin kommt es in allen drei Leukozytengruppen zu einem Abfall der Leukozytenzahl innerhalb der achtstündigen Beobachtungszeit (Tab. 2, 6, 10).

Dieser Rückgang der Zellzahl ist ab der 4. Beobachtungsstunde in jeder der Gruppen im Vergleich zum Ausgangswert statistisch signifikant (Tab. 14). In den Gruppen "1-100" und "über 500" sind die Zellzahlen schon nach ein- und zweistündiger Beobachtungszeit im statistischen Sinne signifikant verschieden vom Ausgangswert, während in der Gruppe "101-500" die Zellzahldifferenzen nach ein und zwei Stunden statistisch auffällig sind (Tab.14).

pH-Wert:

Dieser liegt mit 6,4 (Gruppe "1-100") bzw. 6,3 (Gruppen "101-500" und ">500") im schwach sauren Bereich.

Reihe "IA₄":

Leukozyten:

Auch im Nativurin, der bei 4°C aufbewahrt wurde, ist ein Abfall der Leukozytenzahl zu verzeichnen (Tab. 4,8,12). Bis auf die Ein-Stunden-Werte in den Gruppen "1-100" und ">500", die sich statistisch nicht außerzufällig vom Ausgangswert - es wurden hier die in der Reihe IA_Z bestimmten Werte zum Zeitpunkt 0 zugrunde gelegt - unterscheiden, ist die Zellzahlverminderung analog der in der Reihe IA_Z (Tab.14). Daß die zytologische Degradation im gleichen Ausmaß vor sich geht, läßt sich aus Tabelle 15 ersehen. In dieser ist der statistische Vergleich der zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten gemessenen Leukozytenkonzentrationen im Nativurin bei Zimmertemperatur und bei 4° C aufgeführt. Ein statistisch gesicherter Unterschied besteht nicht.

pH-Wert:

Dieser hat in allen Gruppen und zu allen Untersuchungszeitpunkten die gleiche Höhe wie in den entsprechenden Gruppen und Zeitpunkten der Reihe "IA_Z".

Reihe "IB_Z":

Leukozyten:

Es zeigt sich, daß im gepufferten Urin, in dem ein sehr niedriger pH-Wert und eine hohe Osmolarität bestehen, ebenfalls wie in den entsprechenden Nativurinen ein Abfall der Leukozytenkonzentrationen eintritt (Tab. 3, 7, 11). Generell ist der Rückgang der Zellzahl gegenüber dem Ausgangswert auch hier ab der 4. Stunde in allen drei Gruppen statistisch signifikant, jedoch scheint er langsamer vor sich zu gehen. Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß in den beiden ersten Gruppen "1-100"

und "101-500" die Ausgangswerte der gepufferten Proben im Mittel höher liegen als im Nativurin, wobei der Unterschied statistisch überzufällig ist (Tab. 16).

Die verzögerung des Leukozytenabfalls ist am deutlichsten in den Gruppen mit hohen Zellzahlen ("101-500" und ">500", Tab. 7, 11); zwar ist bei ">500" schon nach einer Stunde ein statistisch signifikanter Rückgang der Leukozytenzahl zu verzeichnen (Tab. 14), gegenüber den Werten der Reihe IA_Z liegen jedoch die Konzentrationen in der 2., 4. und 8. Stunde signifikant höher (Tab. 16).

pH-Wert:

Mit pH 3,9 und 4,0 liegt dieser im stark sauren Bereich, eine Veränderung zu den einzelnen Zeitpunkten tritt nicht ein.

Reihe "IB₄":

Leukozyten:

Indieser Reihe wird das Milieu des Urins außer durch die Pufferung auch durch die niedrige Temperatur bestimmt. Auch hier zeigt sich in zwei Gruppen ("1-100" und ">500", Tab. 5, 13) ab der 4. Stunde ganz analog zu den drei zuvor dargestellten Reihen gegenüber dem Ausgangswert ein Abfall der Leukozytenkonzentration, der signifikant ist. In der Gruppe "101-500" (Tab. 9) stellt sich ein statistisch auffälliger Rückgang der Leukozytenzahl von der 4. Stunde an heraus, ebenso in der zweiten Stunde in der Gruppe ">500" (Tab. 13), während bis zur 2. Stunde in den Gruppen "1-100" und "101-500" der Zellverlust statistisch nicht signifikant ist (Tab. 14).

Vergleicht man die Ergebnisse der Reihe "IB₄" mit denen der Reihe "IB_Z", so erkennt man, daß nur in der Gruppe "1-100" in den Ein- und Zwei-Stunden-Werten ein signifikanter Unterschied besteht, während sonst eine signifikante Differenz sich nicht sichern läßt, also IB₄ und IB_Z analoges Verhalten zeigen (Tab. 17).

pH- Wert:

Dieser zeigt gegenüber den pH-Werten in der Reihe IB_Z keine Abweichungen.

Die Diagramme der Abb. 1 - 3 stellen die besprochenen Ergebnisse grafisch dar, wobei der größeren Anschaulichkeit wegen die zu den einzelnen Zeitpunkten gezählten "überlebenden" Leukozyten in Prozent der Ausgangswerte aufgezeichnet sind. Der Übersichtlichkeit halber wurden die Standardabweichungen nicht eingezeichnet.

Gruppe "1-100": Leukozytenzahl 1-100/mm³, n = 32

t	Leukozyten		pH-Wert		Osmolarität	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Tabelle 2: Reihe "IA _Z "						
0	49	± 25	6,4	$\pm 0,66$	603	± 208
1	44	± 21	6,4	$\pm 0,66$		
2	39	± 22	6,4	$\pm 0,66$		
4	38	± 20	6,4	$\pm 0,66$		
8	34	± 23	6,4	$\pm 0,65$		

Tabelle 3: Reihe "IB _Z "						
0	63	± 31	4,0	$\pm 0,31$	1308	± 142
1	58	± 29	4,0	$\pm 0,31$		
2	54	± 32	4,0	$\pm 0,31$		
4	53	± 33	4,0	$\pm 0,31$		
8	49	± 33	4,0	$\pm 0,31$		

Tabelle 4: Reihe "IA ₄ "						
0	49	± 25	6,4	$\pm 0,66$	603	± 208
1	46	± 25	6,4	$\pm 0,68$		
2	44	± 27	6,4	$\pm 0,68$		
4	38	± 21	6,4	$\pm 0,66$		
8	35	± 21	6,4	$\pm 0,66$		

Tabelle 5: Reihe "IB ₄ "						
0	63	± 31	4,0	$\pm 0,31$	1308	± 142
1	64	± 32	4,0	$\pm 0,31$		
2	63	± 38	4,0	$\pm 0,31$		
4	56	± 32	4,0	$\pm 0,34$		
8	50	± 32	4,0	$\pm 0,34$		

Gruppe "101-500": Leukozytenzahl 101-500/mm³, n = 18

t	Leukozyten		pH-Wert		Osmolarität	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Tabelle 6: Reihe "IA _Z "						
0	234	±109	6,3	±0,65	554	±139
1	202	± 96	6,3	±0,65		
2	195	± 90	6,3	±0,65		
4	169	± 75	6,3	±0,65		
8	147	± 75	6,3	±0,68		

Tabelle 7: Reihe "IB _Z "						
0	270	± 97	4,0	±0,36	1293	± 89
1	241	±93	4,0	±0,36		
2	230	±85	4,0	±0,36		
4	205	±83	4,0	±0,36		
8	206	±101	4,0	±0,42		

Tabelle 8: Reihe "IA ₄ "						
0	234	±109	6,3	±0,65	554	±139
1	210	± 93	6,3	±0,65		
2	206	± 98	6,3	±0,65		
4	191	± 93	6,3	±0,65		
8	163	± 71	6,3	±0,65		

Tabelle 9: Reihe "IB ₄ "						
0	270	± 97	4,0	±0,36	1293	± 89
1	252	±91	4,0	±0,35		
2	251	± 99	4,0	±0,35		
4	218	± 77	4,0	±0,35		
8	211	±113	4,0	±0,35		

Gruppe ">500": Leukozytenzahl >500/mm³, n = 17

t	Leukozyten		pH-Wert		Osmolarität	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Tabelle 10: Reihe "IA _Z "						
0	1771	±1509	6,3	±0,68	454	±216
1	1511	±1275	6,3	±0,68		
2	1298	±1003	6,3	±0,68		
4	1261	±1000	6,3	±0,68		
8	1090	± 875	6,3	±0,65		

Tabelle 11: Reihe "IB _Z "						
0	1739	±1289	3,9	±0,13	1275	±112
1	1617	±1214	3,9	±0,14		
2	1513	±1099	3,9	±0,14		
4	1445	±1150	3,9	±0,18		
8	1295	± 904	3,9	±0,18		

Tabelle 12: Reihe "IA ₄ "						
0	1771	±1509	6,3	±0,68	454	±216
1	1524	±1402	6,3	±0,68		
2	1240	±1024	6,3	±0,68		
4	1114	± 898	6,3	±0,68		
8	1086	± 828	6,3	±0,65		

Tabelle 13: Reihe "IB ₄ "						
0	1739	±1289	3,9	±0,13	1275	±112
1	1856	±1471	3,9	±0,13		
2	1693	±1321	3,9	±0,13		
4	1569	±1198	3,9	±0,13		
8	1296	± 918	3,9	±0,13		

Tabelle 14: Veränderung der Leukozytenkonzentrationen zu den Zeitpunkten 1, 2, 4 und 8 Stunden gegenüber dem Nullwert bei konstant bleibendem pH-Wert. Ergebnisse der Signifikanzprüfung.

Zeitpunkte	Testergebnisse					
	Gruppe "1-100"		Gruppe "101-500"		Gruppe ">500"	
	Leuko	pH	Leuko	pH	Leuko	pH
Reihe "IA _Z "						
0 - 1	++	-	+	-	++	-
0 - 2	++	-	+	-	++	-
0 - 4	++	-	++	-	++	-
0 - 8	++	-	++	-	++	-
Reihe "IB _Z "						
0 - 1	+	-	-	-	++	-
0 - 2	++	-	-	-	++	-
0 - 4	++	-	++	-	++	-
0 - 8	++	-	++	-	++	-
Reihe "IA ₄ "						
0 - 1	-	-	+	-	-	-
0 - 2	++	-	+	-	++	-
0 - 4	++	-	++	-	++	-
0 - 8	++	-	++	-	++	-
Reihe "IB ₄ "						
0 - 1	-	-	-	-	-	-
0 - 2	++	-	-	-	+	-
0 - 4	++	-	+	-	++	-
0 - 8	++	-	+	-	++	↓

Tabelle 15: Statistischer Vergleich der Leukozytenkonzentrationen in Nativurin bei Zimmertemperatur (A_Z) und bei 4° C (A_4) bei konstantem pH-Wert, gemessen 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Entleerung.

t	Gruppe "1-100"			Gruppe "101-500"			Gruppe ">500"		
	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{A_4}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{A_4}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{A_4}$	Test- ergebnis
1	44	46	-	202	210	-	1511	1534	-
2	39	44	+	195	206	-	1298	1240	-
4	38	38	-	169	191	+	1201	1114	-
8	34	35	-	147	163	-	1090	1086	-

Tabelle 16: Statistischer Vergleich der Leukozytenkonzentrationen in Nativurin (A_Z) und gepuffertem Urin (B_Z) bei Zimmertemperatur bei konstantem pH-Wert, gemessen sofort (= 0), 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Entleerung.

t	Gruppe "1-100"			Gruppe "101-500"			Gruppe ">500"		
	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{B_Z}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{B_Z}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{B_Z}$	Test- ergebnis
0	49	63	++	234	270	++	1771	1739	-
1	44	58	++	202	241	+	1511	1617	+
2	39	54	++	195	230	+	1298	1513	++
4	38	53	++	169	205	+	1261	1445	++
8	34	49	++	147	206	++	1090	1295	++

Tabelle 17: Statistischer Vergleich der Leukozytenkonzentrationen in gepuffertem Urin bei Zimmertemperatur (B_Z) und bei 4° C (B_4) bei konstantem pH-Wert, gemessen 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Entleerung.

t	Gruppe "1-100"			Gruppe "101-500"			Gruppe ">500"		
	$\bar{x}_{B_Z}$	$\bar{x}_{B_4}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{B_Z}$	$\bar{x}_{B_4}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{B_Z}$	$\bar{x}_{B_4}$	Test- ergebnis
1	58	64	++	241	252	-	1617	1856	+
2	54	63	++	230	251	-	1513	1693	-
4	53	56	-	205	218	-	1445	1569	+
8	49	50	-	206	211	-	1295	1296	-

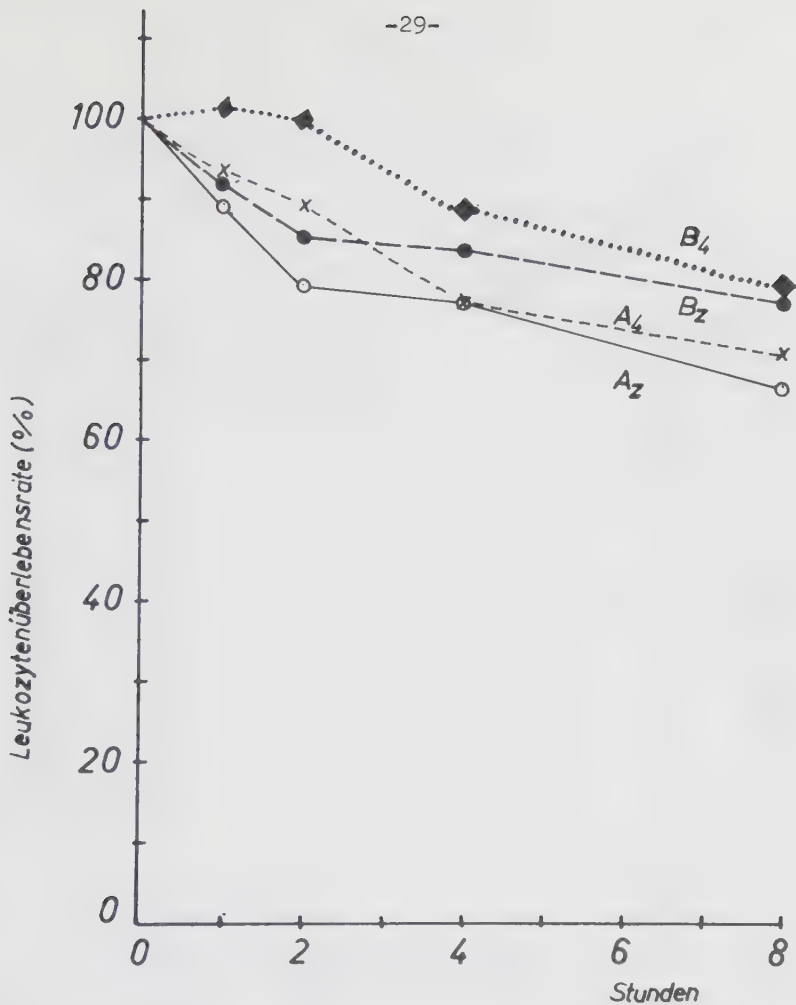


Abb. 1. Verhalten der Leukozyten in Urin mit konstantem pH-Wert, Gruppe "1-100".

A_Z: ○—○ : Nativurin bei Zimmertemperatur

A₄: x---x : Nativurin bei 4° C.

B_Z: ●—● : mit Zitratlösung gepufferter Urin bei Zimmertemperatur

B₄: ◆.....◆ : mit Zitratlösung gepufferter Urin bei 4° C

Diese Zeichenerklärung gilt auch für die Abb. 2-6.

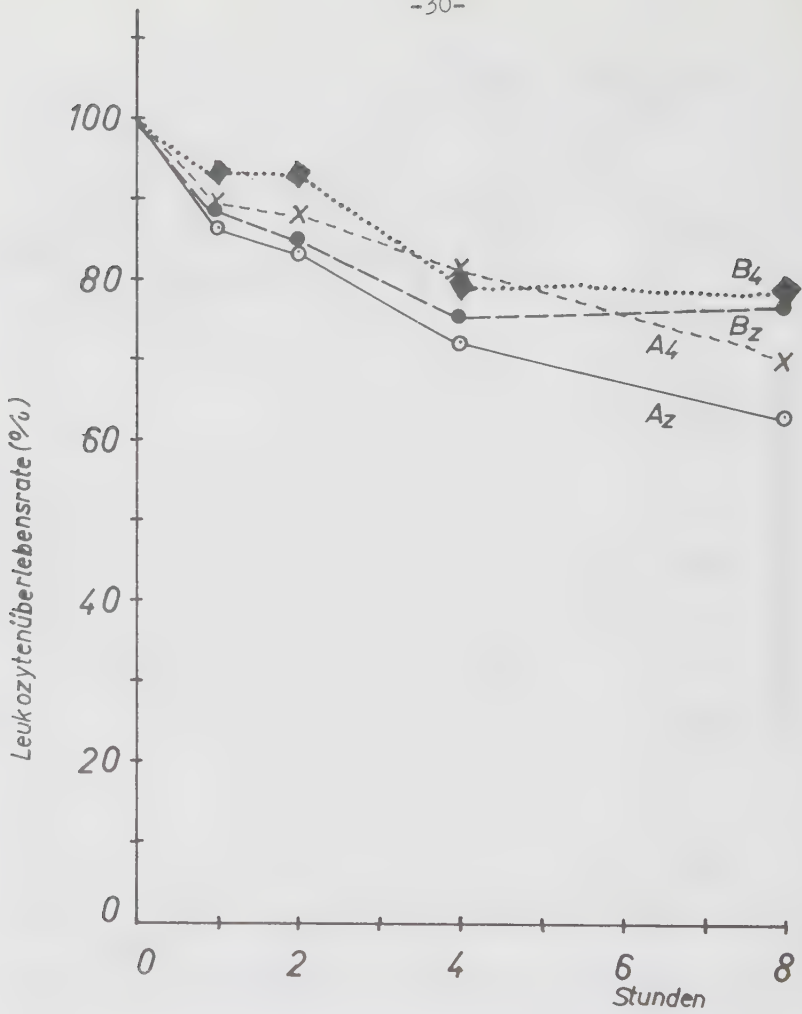


Abb. 2. Verhalten der Leukozyten in Urin mit konstantem pH-Wert, Gruppe "101-500".

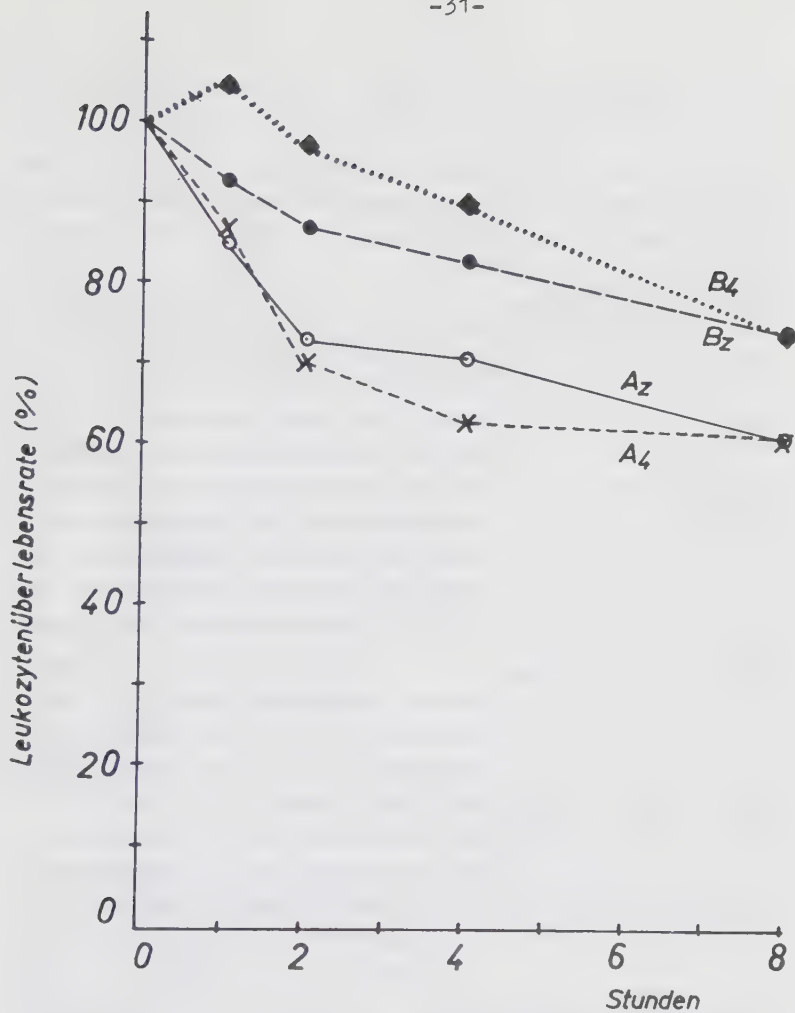


Abb. 3. Verhalten der Leukozyten in Urin mit konstantem pH-Wert, Gruppe " > 500".

b) Fälle mit ansteigendem Harn-pH-Wert

Die Ergebnisse der Leukozytenzählungen in den Fällen mit während der Beobachtungszeit ansteigendem pH-Wert sind in den Tabellen 18 - 29 verzeichnet.

Auch hier gehen die

Tabellen Reihe "IIA_Z" die Mittelwerte der Leukozytenkonzentration und des pH-Wertes von n Nativurinen bei Zimmertemperatur wieder, gemessen 0, 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Gewinnung;

Tabellen Reihe "IIB_Z" die Mittelwerte der Leukozytenkonzentration und des pH-Wertes von n gepufferten Urinen bei Zimmertemperatur, gemessen 0, 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Gewinnung;

Tabellen Reihe "IIA₄" die Mittelwerte der Leukozytenkonzentration und des pH-Wertes von n Nativurinen bei 4° C, gemessen 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Gewinnung;

Tabellen Reihe "IIB₄" die Mittelwerte der Leukozytenkonzentration und des pH-Wertes von n gepufferten Urinen bei 4° C, gemessen 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Gewinnung.

In Tabelle 30 sind wiederum die Resultate der Signifikanzprüfungen innerhalb der Reihen A_Z, B_Z, A₄, B₄, eingetragen, während die Signifikanzprüfungen zwischen verschiedenen Reihen in den Tabellen 31 - 33 aufgezeigt sind.

(Zeichenerklärung s.S. 20)

Reihe "IIA₂":

Leukozyten:

Wie bei den Fällen mit konstantem pH-Wert, ist ein Absinken der Leukozytenkonzentration innerhalb der Beobachtungszeit festzustellen. Dieser ist am deutlichsten in der Gruppe ">500", in der schon nach 1 Stunde ein starker Abfall der Zellzahl zu beobachten ist, der am Ende der Untersuchungszeit (8.Stunde) bis zu weniger als einem Drittel der Zellzahl führt (Tab. 26).

In dieser Gruppe ">500" zeigt andererseits der pH-Wert den stärksten Anstieg. In den Gruppen mit niedriger und mittlerer Zellzahl ist der Rückgang der Leukozytenkonzentration nicht so sprunghaft wie in der Gruppe ">500", jedoch sind auch hier die Differenzen der Leukozytenzahlen zum Ausgangswert spätestens ab der 4.Stunde statistisch signifikant (Tab. 18, 22; 30).

pH-Wert:

In allen drei Gruppen kommt es innerhalb der achtstündigen Beobachtungszeit zu einem Anstieg des pH-Werts, der zu Beginn der Untersuchung im Gegensatz zum Milieu im Nativurin der Klasse I alkalisch, bzw. in Gruppe ">500" leicht sauer ist. In der letztgenannten Gruppe verändert sich das Urinmilieu am deutlichsten zum Alkalischen hin. Jedoch sind die Unterschiede gegenüber dem Ausgangswert statistisch nicht signifikant.

Reihe "IIA₄" :

Leukozyten:

Ein Einfluß der niedrigen Temperatur auf die morphologische Integrität der Leukozyten läßt sich nur in der dritten Gruppe ">500" erkennen, in der es gegenüber der Nativ-Reihe bei Zimmertemperatur zu einer Verlangsamung des Leukozytenschwundes kommt (Tab.28).

Aber auch hier ist die Differenz zum Ausgangswert schon von der 2. Stunde an statistisch signifikant (Tab.30) - wie auch in den beiden anderen Gruppen (Tab. 20, 24; 30). Es besteht kein wesentlicher Unterschied zur Reihe "IIA_Z" (Tab. 31).

pH-Wert:

Durch Kühlung des Urins wird in allen drei Gruppen der pH-Anstieg verzögert, jedoch nicht verhindert (Tab.20, 24; 28). Signifikant gegenüber dem Ausgangs-pH sind die Veränderungen nicht (Tab.30).

Reihe "IIB_Z":

Leukozyten:

Die Pufferung des Urins verhindert auch in dieser Klasse nicht eine Abnahme der Leukozytenzahl, die ab der 4. Stunde in allen drei Gruppen statistisch signifikant ist (Tab. 30), wohl aber wird die Geschwindigkeit des Zellverfalls, wenn auch in geringem Maße, verzögert, was am deutlichsten in der Gruppe ">500" hervortritt (Tab.32). In dieser Gruppe finden sich einige Fälle von stark infizierten Urinen, bei denen im Nativzustand schon wenige Minuten nach Entleerung ein unter dem Mikroskop zu verfolgender Zerfall der Leukozyten eintrat, der im korrespondierenden Urin B_Z durch die sofortige Pufferung abgefangen werden konnte, so daß schon in den Ausgangswerten ein signifikanter bzw. statistisch auffälliger Unterschied bestand (Tab. 32).

pH-Wert:

Dieser liegt im stark sauren Bereich, ist allerdings insbesondere in der 1. Gruppe deutlich höher als in der Klasse I und zeigt nach einer Stunde gering ansteigende Tendenz (Tab. 19, 23, 27), wobei bei den Signifikanzprüfungen sich jedoch negative Testergebnisse finden. (Tab. 30).

Reihe "IIB₄":

Leukozyten:

Hier macht die Leukozytenkonzentration eine ähnliche Veränderung durch wie in der korrespondierenden Reihe der Klasse I bei konstantem pH. Es wird ein Abfall der Zellzahl beobachtet, der, gemessen am Ausgangswert, in den Gruppen "101-500" und ">500" von der 4. Stunde an statistisch signifikant, in der 1. Gruppe "1-100" statistisch auffällig ist (Tab. 30). Zwar lassen sich im gekühlten gepufferten Urin bis zu einem Untersuchungszeitraum von zwei Stunden gegenüber dem Ausgangswert die Unterschiede statistisch nicht signifikant sichern, es zeigt sich nur in zwei Gruppen eine statistische Auffälligkeit (Tab. 30), eine wesentlich andersartige Veränderung besteht gegenüber IIB_Z jedoch nicht (Tab. 33).

pH-Wert:

Dieser hat bei 4° C die gleiche Höhe und gering ansteigende Tendenz wie in der Reihe IIB_Z (Tab. 21, 25, 29). • Auch hier sind die Testergebnisse der Signifikanzprüfungen negativ. (Tab. 30).

In den Diagrammen der Abb. 4-6 sind die Ergebnisse der Klasse II nochmals veranschaulicht; auch hier wurde die "Leukozytenüberlebensrate" als Prozentsatz des Ausgangswertes angegeben; die Standardabweichungen wurden zur besseren Übersichtlichkeit nicht eingezeichnet.

Gruppe "1-100" : Leukozytenzahl 1-100/mm³, n = 10

t	Leukozyten		pH-Wert		Osmolarität	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Tabelle 18 : Reihe "IIA _Z "						
0	47	±21	7,2	±0,48	524	±112
1	43	±21	7,4	±0,41		
2	41	±20	7,5	±0,50		
4	35	±17	7,6	±0,55		
8	29	±11	7,6	±0,56		

Tabelle 19 : Reihe "IIB _Z "						
0	58	±20	4,6	±0,92	1256	± 44
1	54	±19	4,7	±0,90		
2	50	±17	4,7	±0,97		
4	46	±17	4,7	±0,97		
8	40	±13	4,7	±0,97		

Tabelle 20 : Reihe "IIA ₄ "						
0	47	±21	7,2	±0,48	524	±112
1	41	±18	7,3	±0,41		
2	37	±15	7,4	±0,49		
4	32	±16	7,4	±0,49		
8	29	±13	7,4	±0,48		

Tabelle 21 : Reihe "IIB ₄ "						
0	58	±20	4,6	±0,92	1256	± 44
1	63	±25	4,7	±0,90		
2	57	±23	4,7	±0,97		
4	48	±22	4,7	±0,97		
8	44	±24	4,7	±0,96		

Gruppe "101-500" : Leukozytenzahl 101-500/mm³, n = 12

t	Leukozyten		pH-Wert		Osmolarität	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Tabelle 22 : Reihe "IIA _Z "						
0	248	±121	7,0	±0,49	423	±123
1	235	±119	7,2	±0,50		
2	207	±110	7,2	±0,49		
4	163	±109	7,3	±0,48		
8	144	± 98	7,4	±0,55		

Tabelle 23 : Reihe "IIB _Z "						
0	284	±123	4,2	±0,44	1203	± 92
1	261	±116	4,3	±0,46		
2	254	±133	4,3	±0,46		
4	225	±128	4,3	±0,46		
8	206	±102	4,3	±0,44		

Tabelle 24 : Reihe "IIA ₄ "						
0	248	±121	7,0	±0,49	423	±123
1	217	±109	7,1	±0,50		
2	190	± 96	7,2	±0,51		
4	174	± 89	7,2	±0,51		
8	142	± 71	7,2	±0,52		

Tabelle 25 : Reihe "IIB ₄ "						
0	284	±123	4,2	±0,44	1203	± 92
1	263	±124	4,3	±0,48		
2	248	±125	4,3	±0,48		
4	238	±123	4,3	±0,48		
8	215	±114	4,3	±0,44		

Gruppe ">500" : Leukozytenzahl >500/mm³, n = 11

t	Leukozyten		pH-Wert		Osmolarität	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	1777	±1764	6,7	±0,28	479	±277
1	1242	±1240	7,0	±0,29		
2	1058	±1211	7,1	±0,20		
4	657	± 626	7,3	±0,33		
8	523	± 571	7,4	±0,59		

Tabelle 26 : Reihe "IIA_Z"

0	2130	±2427	4,1	±0,23	1274	±102
1	1878	±2188	4,1	±0,23		
2	1532	±1563	4,1	±0,21		
4	1306	±1307	4,1	±0,21		
8	927	± 868	4,1	±0,21		

Tabelle 28 : Reihe "IIA₄"

0	1777	±1764	6,7	±0,28	479	±277
1	1617	±1717	6,9	±0,23		
2	1427	±1576	6,9	±0,22		
4	1161	±1149	6,9	±0,22		
8	748	± 808	7,1	±0,27		

Tabelle 29 : Reihe "IIB₄"

0	2130	±2427	4,1	±0,23	1274	±102
1	1822	±1874	4,1	±0,23		
2	1677	±1641	4,1	±0,21		
4	1394	±1231	4,1	±0,21		
8	1159	± 977	4,1	±0,21		

Tabelle 30 : Veränderung der Leukozytenkonzentrationen zu den Zeitpunkten 1, 2, 4 und 8 Stunden gegenüber den Nullwerten bei steigendem pH-Wert. Ergebnisse der Signifikanzprüfungen.

Zeitpunkte	Testergebnisse					
	Gruppe "1-100"		Gruppe "101-500"		Gruppe ">500"	
	Leuko	pH	Leuko	pH	Leuko	pH
Reihe "IIA _Z "						
0 - 1	+	-	-	-	++	-
0 - 2	+	-	++	-	++	-
0 - 4	++	-	++	-	++	-
0 - 8	++	-	++	-	++	-
Reihe "IIB _Z "						
0 - 1	+	-	-	-	++	-
0 - 2	+	-	-	-	++	-
0 - 4	++	-	++	-	++	-
0 - 8	+	-	++	-	++	-
Reihe "IIA ₄ "						
0 - 1	+	-	++	-	-	-
0 - 2	++	-	++	-	++	1
0 - 4	++	-	++	-	++	-
0 - 8	++	-	++	-	++	-
Reihe "IIB ₄ "						
0 - 1	-	-	-	-	-	-
0 - 2	-	-	+	-	+	-
0 - 4	+	-	++	-	++	-
0 - 8	+	-	++	-	++	-

Tabelle 31: Statistischer Vergleich der Leukozytenkonzentrationen in Nativurin bei Zimmertemperatur (A_Z) und bei 4°C (A_4) bei steigendem pH-Wert, gemessen 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Entleerung.

t	Gruppe "1-100"			Gruppe "101-500"			Gruppe ">500"		
	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{A_4}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{A_4}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{A_4}$	Test- ergebnis
1	43	41	-	235	217	-	1242	1617	-
2	41	37	-	207	190	+	1058	1427	-
4	35	32	-	163	174	-	657	1161	++
8	29	29	-	144	142	-	623	746	-

Tabelle 32: Statistischer Vergleich der Leukozytenkonzentrationen in Nativurin (A_Z) und gepuffertem Urin (B_Z) bei Zimmertemperatur bei steigendem pH-Wert, gemessen sofort (= 0), 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Entleerung.

t	Gruppe "1-100"			Gruppe "101-500"			Gruppe ">500"		
	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{B_Z}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{B_Z}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{A_Z}$	$\bar{x}_{B_Z}$	Test- ergebnis
0	47	58	++	248	284	++	1777	2130	+
1	43	54	+	235	261	-	1242	1878	++
2	41	50	-	207	254	+	1058	1552	++
4	35	46	+	163	225	++	657	1306	++
8	29	40	++	144	206	++	523	927	+

Tabelle 33: Statistischer Vergleich der Leukozytenkonzentrationen in gepuffertem Urin bei Zimmertemperatur (B_Z) und bei 4°C (B_4) bei steigendem pH-Wert, gemessen 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Entleerung.

t	Gruppe "1-100"			Gruppe "101-500"			Gruppe ">500"		
	$\bar{x}_{B_Z}$	$\bar{x}_{B_4}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{B_Z}$	$\bar{x}_{B_4}$	Test- ergebnis	$\bar{x}_{B_Z}$	$\bar{x}_{B_4}$	Test- ergebnis
1	54	63	+	261	263	-	1878	1822	-
2	50	57	+	254	248	-	1532	1677	-
4	46	48	-	225	238	-	1306	1394	-
8	40	44	-	206	215	-	927	1159	-

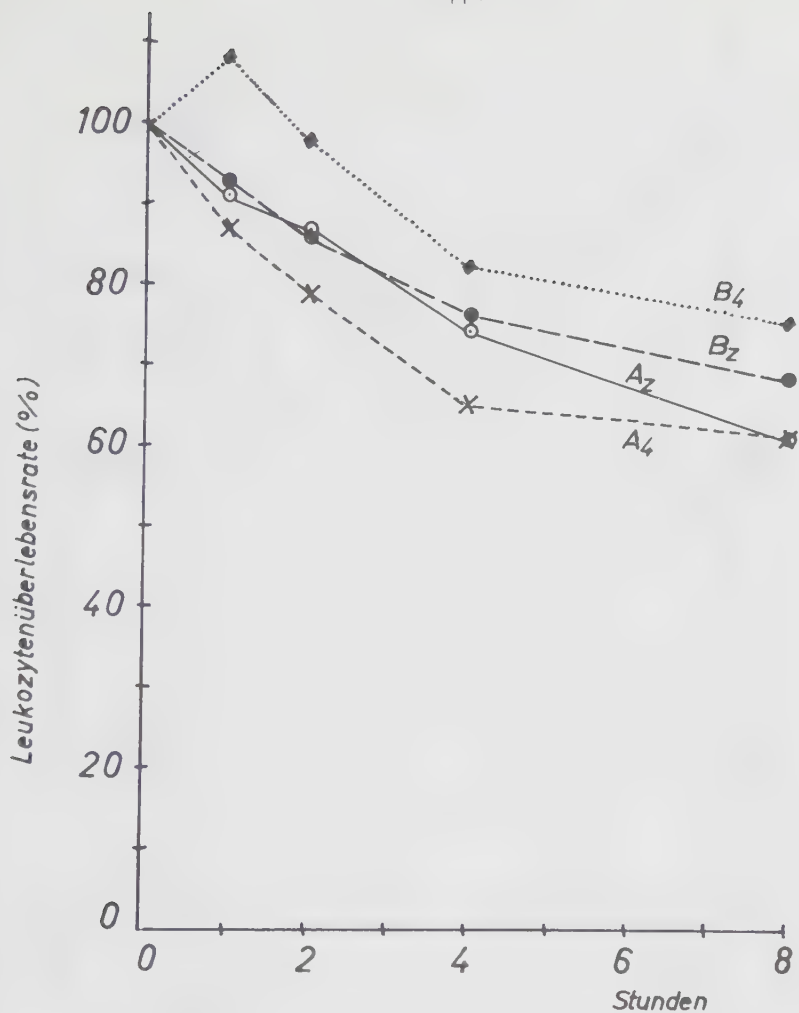


Abb. 4. Verhalten der Leukozyten in Urin mit steigendem pH-Wert, Gruppe "1-100".

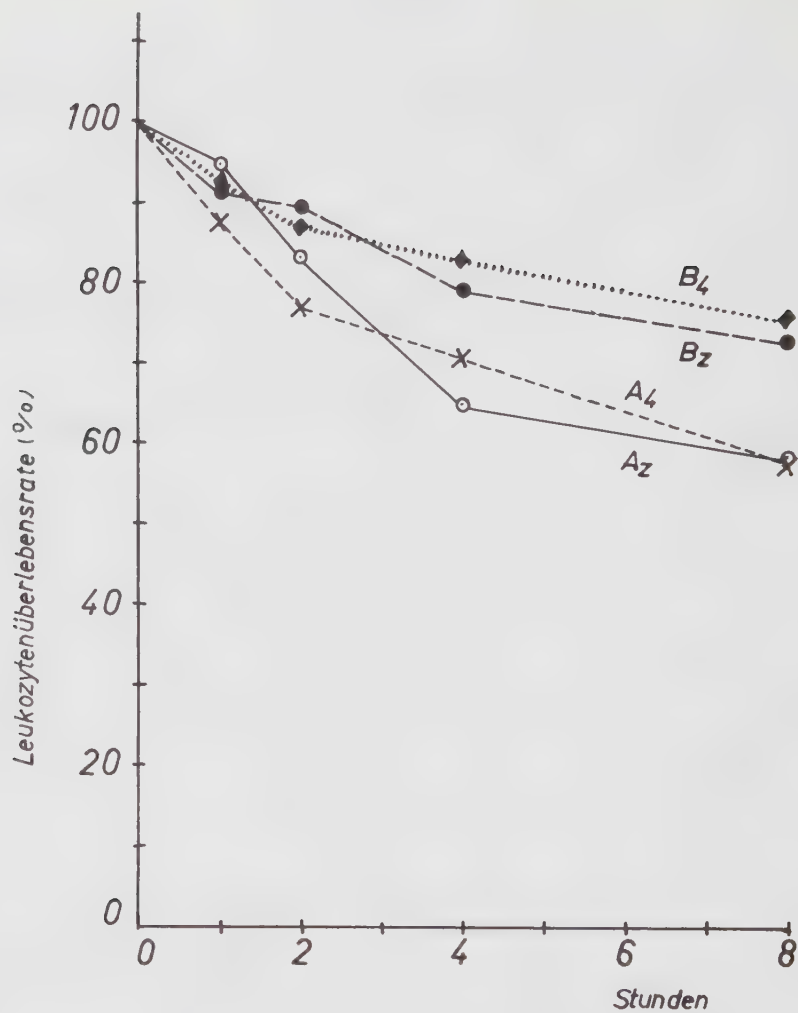


Abb. 5. Verhalten der Leukozyten in Urin mit steigendem pH-Wert, Gruppe "101-500".

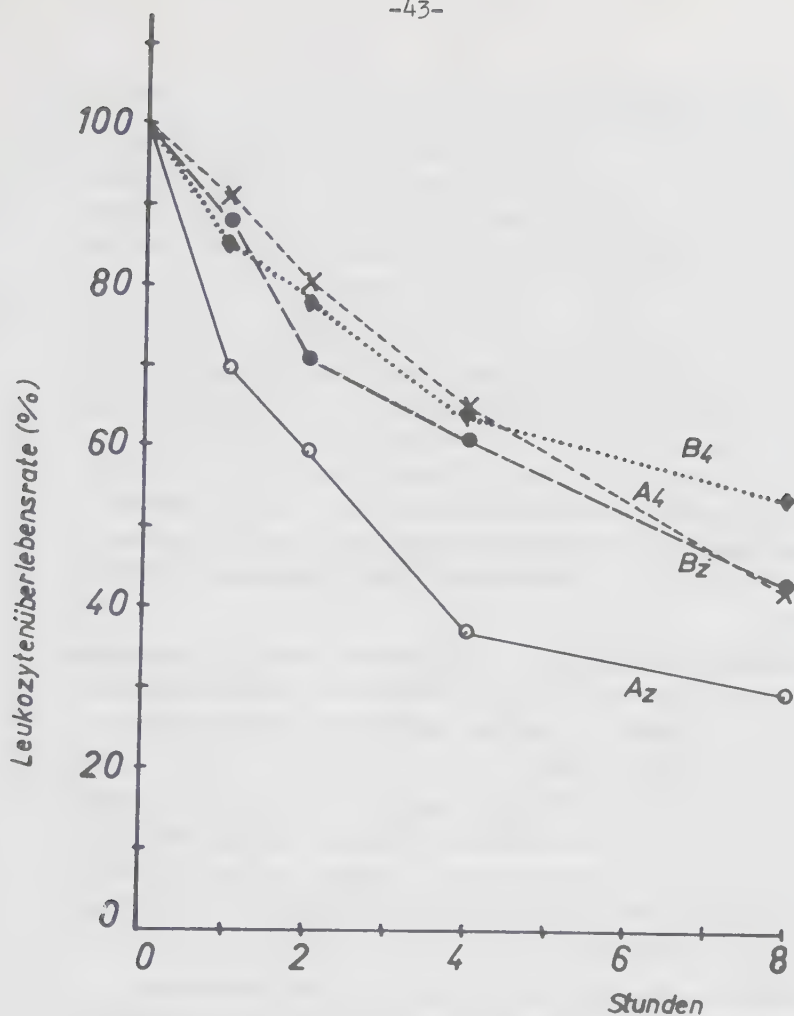


Abb. 6. Verhalten der Leukozyten in Urin mit steigendem pH-Wert, Gruppe " > 500".

c) Einfluß der Osmolarität

Bei der Prüfung des Einflusses, den die Wasserstoffionenkonzentration auf die Leukozytenpersistenz ausübt, blieb zunächst unberücksichtigt, daß die Osmolarität im Nativurin und im gepufferten Urin in den einzelnen Proben einen verschieden hohen Ausgangswert hat.

Mittels der multiplen Regressionsanalyse, in der eine Abhängigkeit der Leukozytenkonzentration im Verlaufe der Beobachtungszeit von den beiden Größen Osmolarität und Urin-pH gleichzeitig rechnerisch erfaßt wird, wurde der Einfluß der Osmolarität auf die Leukozytenkonzentration untersucht. Dabei stellen Osmolarität und Wasserstoffionenkonzentration die unabhängigen Variablen, die Leukozytenzahl die abhängige Variable dar.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 34 - 37 dargelegt. Es wurden jeweils die 100 Proben des Nativurins und des gepufferten Urins bei Zimmertemperatur und bei 4° C zusammengefaßt.

In den Reihen des Nativurins ist sofort nach Gewinnung des Urins der Zusammenhang zwischen Osmolarität und pH einerseits und Leukozytenzahl andererseits statistisch auffällig (Tab. 34, 35); bei 4° C trifft dies auch eine Stunde nach Uringewinnung zu (Tab. 35).

Statistisch gesichert ist im bei Zimmertemperatur aufbewahrten Urin die Abhängigkeit der Leukozytenzahl von Osmolarität und pH-Wert eine und zwei Stunden nach Blasenentleerung.

Auch im gekühlten Urin (Nativurin A_{4,2}) besteht zwei Stunden nach Uringewinnung ein statistisch

signifikanter Zusammenhang zwischen Konzentration der weißen Zellen und Osmolarität sowie Wasserstoffionenkonzentration (Tab. 35).

Daß die Osmolarität die Leukozytenkonzentration wesentlich stärker beeinflußt als die Wasserstoffionenkonzentration, zeigt der partielle Korrelationskoeffizient an. Im Nativurin A_Z ist er zu allen Zeitpunkten signifikant. Er ist negativ, d.h. auch bei steigender Osmolarität nimmt die Leukozytenzahl ab. Das Ausmaß der Abnahme ist gegeben durch die Höhe des Regressionskoeffizienten b_{osmol} (Tab. 34).

Im gekühlten Urin A_4 gibt der partielle Korrelationskoeffizient nur einen statistisch auffälligen Zusammenhang zwischen Osmolarität und Leukozytenkonzentration an (Tab. 35).

Im gepufferten Urin B_Z und B_4 (Tab. 36, 37), in dem hohe Osmolaritäten gemessen wurden, ist zu keinem Untersuchungszeitpunkt ein kausaler Zusammenhang zwischen der Leukozytenzahl pro mm^3 und der Osmolarität sowie dem pH-Wert statistisch zu sichern.

Tabelle 34: Beziehung zwischen Osmolarität und Wasserstoffionenkonzentration (pH) einerseits und Leukozytenkonzentration andererseits im Nativurin A_Z bei Zimmertemperatur. Ergebnisse der multiplen Regressionsrechnung. (n = 100)

t	Leukozyten		Osmolarität		pH	multipler Korrelations- koeffizient	partieller Korrelations- koeffizient	Regressions- koeffizient			
	pro mm ³	$\bar{x}$	s	mmol/l				r_{osmol}	r_{pH}	b_{osmol}	b_{pH}
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	r	r_{osmol}	r_{pH}	b_{osmol}	b_{pH}
0	545	±1062	527	±203	6,5	±0,7	0,4020 (+)	-0,2678 (++)	-0,036 (-)	-1,41	-291
1	436	± 816	527	±203	6,6	±0,7	0,4624 (++)	-0,2799 (++)	-0,088 (-)	-1,10	-869
2	381	± 706	527	±203	6,6	±0,7	0,4665 (++)	-0,2837 (++)	-0,056 (-)	-0,96	-587
4	309	± 558	527	±203	6,7	±0,8	0,3746 (+)	-0,2938 (++)	-0,008 (-)	-0,83	- 65
8	265	± 496	527	±203	6,7	±0,8	0,3284 (-)	-0,2639 (++)	+0,061 (-)	-0,67	+225

$\bar{x}$ = Mittelwert
s = Standardabweichung
t = Untersuchungszeitpunkt
(++) = statistisch signifikant ($p \leq 1\%$)
(+) = statistisch auffällig ($1\% \leq p \leq 5\%$)
(-) = statistisch kein Unterschied zu sichern

Tabelle 35: Beziehung zwischen Osmolarität und Wasserstoffionenkonzentration (pH) einerseits und Leukozytenkonzentration andererseits im Nativurin A bei 4° C. Ergebnisse der multiplen Regressionsrechnung . (n = 100)

t	Leukozyten Osmolarität pro mm ³		pH		multipler Korrelations- koeffizient	partieller Korrelations- koeffizient	Regressions- koeffizient				
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s			b_{osmol}	b_{pH}			
0	545	± 1062	527	± 203	6,5	$\pm 0,7$	0,3946 (+)	-0,2499 (+)	-0,020 (-)	-1,31	- 172
1	492	± 1016	527	± 203	6,6	$\pm 0,7$	0,4004 (+)	-0,2401 (+)	+0,085 (-)	-1,19	+1132
2	430	± 846	527	± 203	6,6	$\pm 0,7$	0,4201 (++)	-0,2192 (+)	-0,009 (-)	-0,89	- 251
4	370	± 682	527	± 203	6,6	$\pm 0,7$	0,3047 (-)	-0,1903 (-)	-0,085 (-)	-0,65	-1977
8	300	- 539	527	-203	6,6	-0,7	0,2918 (-)	-0,2231 (-)	+0,194 (-)	-0,61	+1074

(Zeichenerklärung s.S. 46)

Tabelle 36 : Beziehung zwischen Osmolarität und Wasserstoffionenkonzentration (pH) einerseits und Leukozytenkonzentration andererseits im gepufferten Urin B_z bei Zimmertemperatur. Ergebnisse der multiplen Regressionsrechnung. ($n = 100$)

t	Leukozyten			Osmolarität			pH			multipler		partieller Korrelations-		Regressions-	
	pro mm ³			mosmol/l						Korrelations-		koeffizient		koeffizient	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	r	r_{osmol}	r_{pH}	b_{osmol}	b_{pH}	
0	619	± 1227	1278	± 114	4,1	$\pm 0,4$	0,1502	(-)	-0,1002	(-)	+0,017	(-)	-1,12	+ 320	
1	558	± 1106	1278	± 114	4,1	$\pm 0,5$	0,1696	(-)	-0,1127	(-)	-0,077	(-)	-1,13	-2459	
2	500	± 898	1278	± 114	4,1	$\pm 0,5$	0,1947	(-)	-0,1117	(-)	+0,022	(-)	-0,91	+ 824	
4	445	± 807	1278	± 114	4,1	$\pm 0,5$	0,2148	(-)	-0,1310	(-)	+0,041	(-)	-0,95	+1328	
8	374	± 616	1278	± 114	4,1	$\pm 0,5$	0,2521	(-)	-0,1379	(-)	-0,006	(-)	-0,76	- 84	

(Zeichenerklärung s.S.46)

Tabelle 37 : Beziehung zwischen Osmolarität und Wasserstoffkonzentration (pH) einerseits und Leukozytenkonzentration andererseits im gepufferten Urin B₄ bei 4° C. Ergebnisse der multiplen Regressionsrechnung. (n = 100)

t	Leukozyten Osmolarität			pH			multipler Korrelations- koeffizient	partieller Korrelations- koeffizient	Regressions- koeffizient
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s			
	pro mm ³		mosmol/l						
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	r	r _{osmol}	r _{pH}
0	619	±1227	1278	±114	4,1	±0,4	0,1638 (-)	-0,0995 (-)	+0,042 (-)
1	579	±1095	1278	±114	4,1	±0,5	0,2065 (-)	-0,1193 (-)	-0,101 (-)
2	540	± 988	1278	±114	4,1	±0,5	0,2046 (-)	-0,1117 (-)	+0,065 (-)
4	477	± 835	1278	±114	4,1	±0,5	0,2278 (-)	-0,1219 (-)	+0,028 (-)
8	408	± 674	1278	±114	4,1	±0,5	0,2614 (-)	-0,1333 (-)	-0,065 (-)
								b _{osmol}	b _{pH}
								-1,09	+ 872
								-1,16	-3312
								-0,98	+2549
								-0,90	+ 944
								-0,79	- 981

(Zeichenerklärung s.S. 46)

2. Auswertung der bakteriologischen Untersuchungen

In der grafischen Darstellung der Abb. 7 sind die quantitativen Ergebnisse der Leukozytenzählungen und der bakteriologischen Untersuchungen in 35 Nativharnproben in Beziehung zueinander gesetzt.

Hier zeigt sich, daß in der Gruppe mit hochpathologischer Leukozytenzahl pro mm^3 wesentlich häufiger eine signifikante Bakteriurie (= Keimzahl $> 10^5$ / ml) angetroffen wird als in der Gruppe mit niedriger Leukozytenzahl.

In der Gruppe "101 - 500" sind die Kulturen mit $< 10^5$ / ml, $> 10^5$ / ml Keimen und solchen ohne Keimwachstum in gleicher Häufigkeit vertreten.

Aus der Abbildung ist zudem ersichtlich, daß relativ häufig auch bei Fehlen einer signifikanten Bakteriurie pathologische Leukozytenzahlen im Urin zu finden sind.

Über die Art der Erreger und ihre Verteilung in den einzelnen Leukozytengruppen sowie über den Anteil der Kulturen mit einer Keimzahl von über 10^5 / ml gibt die Tabelle 38 Auskunft.

B. proteus und *E. coli* wurden insgesamt in gleicher Häufigkeit gefunden, *Pseudomonas aeruginosa* und *Streptococcus faecalis* sowie Mischkulturen waren demgegenüber wesentlich seltener anzutreffen. Unter den letzteren war nur einmal eine Kultur mit mehr als 10^5 Keimen pro ml Urin, während bei allen mit *B. proteus* und bei $3/4$ der mit *E. coli* infizierten bakteriologisch untersuchten Urinproben eine signifikante Bakteriurie bestand.

Dabei ist zu vermerken, daß 3 von 4 der mit *B. proteus* infizierten Urinproben sich in der Klasse mit steigendem pH-Wert fanden.

Auf eine weitergehende statistische Bearbeitung der Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen wurde wegen der zu geringen Zahl von Proben verzichtet.

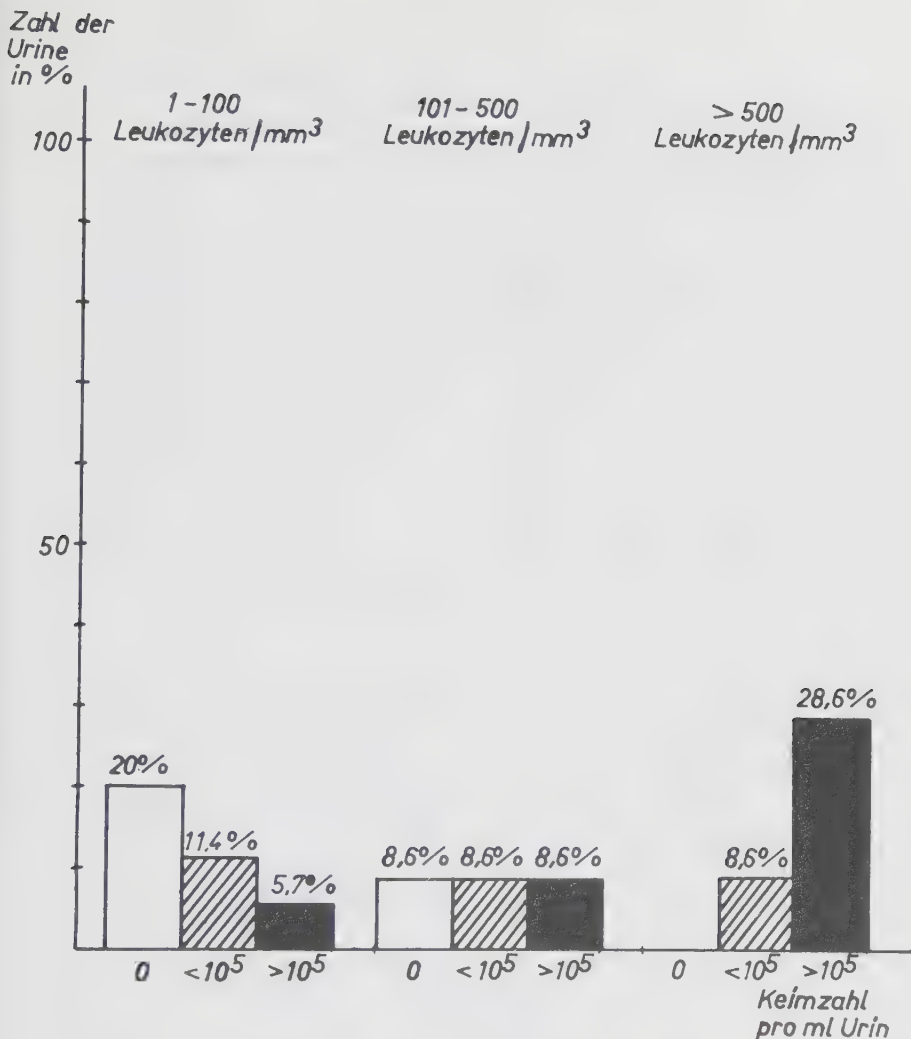


Abb. 7. Beziehung zwischen Leukozytenzahl/mm³ und Keimzahl/ml in 35 Nativurinen.

- : kein Keimwachstum
- ▨ : < 10⁵ Keime/ml
- : > 10⁵ Keime/ml

Tabelle 38: Verteilung der Ergebnisse qualitativer und quantitativer bakteriologischer Harnuntersuchungen (35 Nativharnproben) in den einzelnen nach Leukozytenzahl definierten Gruppen.

Keimart	Häufigkeit in den Gruppen			Alle	Kulturen mit Keimzahl >10 ⁵ /ml
	1-100	101-500	> 500		
B. proteus	1 (2,9%)	1 (2,9%)	6 (17,2%)	8 (22,8%)	8 (22,8%)
E. coli	3 (8,6%)	2 (5,7%)	3 (8,6%)	8 (22,8%)	6 (17,2%)
Ps.aeruginosa	1 (2,9%)	2 (5,7%)		3 (8,6%)	
Str.faecalis	1 (2,9%)		1 (2,9%)	2 (5,7%)	
Mischkulturen:					
B.proteus + E.coli		1 (2,9%)	2 (5,7%)	3 (8,6%)	
Ps.aeruginosa + Str.faecalis			1 (2,9%)	1 (2,9%)	1 (2,9%)
kein Wachstum	7 (20%)	3 (8,6%)		10 (28,6%)	

3. Ergebnisse der übrigen Konstituenten im Harn

Die Mittelwerte der Meßergebnisse von Harnstoff, Kreatinin, Natrium, Kalium, Chlorid, Calcium, anorganischem Phosphat (jeweils Konzentration im Urin) - sowie Eiweiß und Glucose (qualitative Bestimmung) - wurden in Tabelle 39 für alle untersuchten Urinproben zusammengefaßt. Bezüglich Eiweiß und Glucose wurde lediglich zwischen positivem und negativem Ergebnis der (qualitativen) Bestimmung unterschieden.

Tabelle 39: Mittelwerte und Standardabweichungen verschiedener Konstituenten im Nativurin aller 100 untersuchten Urinproben.

		n	$\bar{x}$	s
Harnstoff	mg%	100	983,6	$\pm 642,6$
Kreatinin	mg%	100	53,3	$\pm 35,2$
Natrium	mval/l	96	131,6	$\pm 73,0$
Kalium	mval/l	100	63,7	$\pm 39,5$
Calcium	mg%	100	7,7	$\pm 5,4$
Chlorid	mval/l	95	131,5	$\pm 70,1$
anorg.Phosphat	mg%	100	89,9	$\pm 74,2$
Eiweiß (qualitativ)		72 negativ 28 positiv		
Glucose (qualitativ)		100 negativ 0 positiv		

(n = Fallzahl, $\bar{x}$ = Mittelwert, s = Standardabweichung)

In den Tabellen 40 - 46 sind die Ergebnisse der einfachen Regressionsrechnung der Beziehung zwischen den einzelnen Konstituenten und den Leukozytenkonzentrationen im Nativurin und im gepufferten Urin bei Zimmertemperatur und bei 4° C niedergelegt. Es werden die beiden Regressionskoeffizienten a und b, der Korrelationskoeffizient r sowie das Ergebnis der Signifikanzprüfung des letzteren aufgeführt.

Dabei ist

- "++" : statistisch signifikant ($p \leq 1\%$)
- "+" : statistisch auffällig ($1\% \leq p \leq 5\%$)
- "-" : statistisch kein Zusammenhang zu sichern
- $\bar{x}$: Mittelwert
- s : Standardabweichung
- a : Achsenabschnitt der Regressionsgeraden
- b : Steigung der Regressionsgeraden

Zwischen der Leukozytenkonzentration in den Proben A_Z , A_4 , B_Z , B_4 und dem Gehalt des Nativurins an Harnstoff, Natrium, Calcium, Chlorid und anorganischem Phosphat besteht zu keinem Untersuchungszeitpunkt ein statistisch signifikanter Zusammenhang (Tab. 40, 42, 44, 45, 46).

Statistisch auffällig ist die Korrelation zwischen Kreatininkonzentration und Leukozytenzahl pro mm^3 im Nativ- und "Puffer"-Urin zu mehreren Zeitpunkten (Tab. 41). Eine signifikante Abhängigkeit ließ sich zu keinem Zeitpunkt sichern.

Beim Kalium (Tab. 43) ist in den beiden Untersuchungsreihen des Nativurins A_Z und A_4 die Beziehung zwischen Elektrolyt und Leukozytenzahl zu allen Zeitpunkten statistisch auffällig. Dieses Ergebnis finden wir auch im gepufferten Urin sofort und eine Stunde (B_Z bei Zimmertemperatur) sowie - bei 4° C -

zwei Stunden ($B_{4,2}$) nach Uringewinnung. Zu den späteren Zeitpunkten zeigen die Korrelationskoeffizienten einen statistisch signifikanten Zusammenhang an (Tab. 43, II, III), d.h. die Leukozytenzahl im gepufferten Urin ist von der 2. bzw. 4. Stunde an abhängig vom ursprünglichen Kaliumgehalt des Urins. Die Höhe von r läßt erkennen, daß ein relativ geringer, keinesfalls streng funktionaler Zusammenhang besteht. Die Negativität von r bedeutet, daß bei Zunahme des Kaliumgehaltes die Leukozytenzahl im gepufferten Urin abnimmt. Das Ausmaß des Leukozytenverlustes bei steigendem Kaliumgehalt wird durch den Regressionskoeffizienten b angegeben.

Tabelle 40: Beziehung zwischen Harnstoff und Leukozytenkonzentration in Nativurin und gepuffertem Urin bei Zimmertemperatur und 4° C.

(Harnstoff: $\bar{x}$ = 983,6 mg%, s = $\pm$ 642,6 mg%, n = 100)

t	Leukozyten pro mm ³	Korrelations- koeffizient r	Signi- fikanz	Regressions- koeffizient a	b
$\bar{x}$	s				
I. Nativurin A_Z bei Zimmertemperatur					
0	545 $\pm$ 1062	-0,17	-	817,38	-0,28
1	436 $\pm$ 816	-0,14	-	615,50	-0,18
2	381 $\pm$ 706	-0,14	-	532,12	-0,15
4	309 $\pm$ 558	-0,16	-	442,92	-0,14
8	265 $\pm$ 496	-0,16	-	383,90	-0,12
II. Nativurin A₄ bei 4° C					
0	545 $\pm$ 1062	-0,17	-	817,38	-0,28
1	492 $\pm$ 1016	-0,14	-	704,48	-0,22
2	430 $\pm$ 846	-0,12	-	585,49	-0,16
4	370 $\pm$ 682	-0,14	-	514,69	-0,15
8	300 $\pm$ 539	-0,13	-	407,14	-0,11
III. gepufferter Urin B_Z bei Zimmertemperatur					
0	619 $\pm$ 1227	-0,15	-	897,63	-0,28
1	558 $\pm$ 1106	-0,15	-	815,98	-0,26
2	500 $\pm$ 898	-0,16	-	718,87	-0,22
4	445 $\pm$ 807	-0,18	-	664,72	-0,22
8	374 $\pm$ 616	-0,19	-	547,84	-0,18
IV. gepufferter Urin B₄ bei 4° C					
0	619 $\pm$ 1227	-0,15	-	897,63	-0,28
1	579 $\pm$ 1095	-0,16	-	842,11	-0,27
2	540 $\pm$ 988	-0,15	-	768,54	-0,23
4	477 $\pm$ 835	-0,18	-	702,50	-0,23
8	408 $\pm$ 674	-0,17	-	592,24	-0,19

Tabelle 41: Beziehung zwischen Kreatinin und Leukozytenkonzentration in Nativurin und gepuffertem Urin bei Zimmertemperatur und 4° C.

(Kreatinin: $\bar{x} = 53,3$ mg%, $s = \pm 35,2$ mg%, $n = 100$)

t	Leukozyten pro mm ³		Korrelations- koeffizient r	Signi- fikanz	Regressions- koeffizient	
	$\bar{x}$	s			a	b
I. Nativurin A _Z bei Zimmertemperatur						
0	545	±1062	-0,20	+	866,09	-6,03
1	436	± 816	-0,18	-	661,62	-4,23
2	381	± 706	-0,18	-	577,64	-3,69
4	309	± 558	-0,23	+	500,36	-3,60
8	265	± 496	-0,23	+	433,70	-3,17
II. Nativurin A ₄ bei 4° C						
0	545	±1062	-0,20	+	866,09	-6,03
1	492	±1016	-0,18	-	765,95	-5,14
2	430	± 846	-0,17	-	642,03	-3,98
4	370	± 682	-0,18	-	551,83	-3,41
8	300	± 539	-0,17	-	440,58	-2,64
III. gepuffertter Urin B _Z bei Zimmertemperatur						
0	619	±1227	-0,18	-	961,37	-6,43
1	558	±1106	-0,18	-	862,69	-5,71
2	500	± 898	-0,20	+	768,75	-5,04
4	445	± 807	-0,22	+	719,50	-5,15
8	374	± 616	-0,25	+	606,95	-4,38
IV. gepuffertter Urin B ₄ bei 4° C						
0	619	±1227	-0,18	-	961,37	-6,43
1	579	±1095	-0,20	+	905,37	-6,12
2	540	± 988	-0,19	-	829,72	-5,43
4	477	± 835	-0,22	+	751,78	-5,16
8	408	± 674	-0,22	+	661,04	-4,81

Tabelle 42: Beziehung zwischen Natrium und Leukozytenkonzentration in Nativurin und gepuffertem Urin bei Zimmertemperatur und 4° C.

(Natrium: $\bar{x} = 131,6$ mval/l, $s = \pm 73,0$ mval/l, $n = 96$)

t	Leukozyten pro mm ³		Korrelations- koeffizient r	Signi- fikanz	Regressions- koeffizient a b	
I. Nativurin A _Z bei Zimmertemperatur						
0	545	±1062	-0,11	-	686,55	-1,41
1	436	± 816	-0,12	-	536,37	-1,09
2	381	± 706	-0,11	-	468,32	-0,92
4	309	± 558	-0,14	-	386,01	-0,85
8	265	± 496	-0,10	-	306,34	-0,54
II. Nativurin A ₄ bei 4° C						
0	545	±1062	-0,11	-	686,55	-1,41
1	492	±1016	-0,12	-	627,99	-1,41
2	430	± 846	-0,08	-	505,75	-0,84
4	370	± 682	-0,06	-	401,17	-0,48
8	300	± 539	-0,07	-	323,52	-0,40
III. gepuffertem Urin B _Z bei Zimmertemperatur						
0	619	±1227	-0,11	-	806,37	-1,73
1	558	±1106	-0,11	-	732,40	-1,61
2	500	± 898	-0,11	-	628,32	-1,23
4	445	± 807	-0,13	-	567,37	-1,21
8	374	± 616	-0,15	-	478,18	-1,04
IV. gepuffertem Urin B ₄ bei 4° C						
0	619	±1227	-0,11	-	806,37	-1,73
1	579	±1095	-0,13	-	768,74	-1,79
2	540	± 988	-0,11	-	669,21	-1,29
4	477	± 835	-0,11	-	581,26	-1,08
8	408	± 674	-0,11	-	492,68	-0,85

Tabelle 43: Beziehung zwischen Kalium und Leukozytenkonzentration in nativurin und gepuffertem urin bei zimmertemperatur und 4° C.

(Kalium: $\bar{x} = 63,7$ mval/l, $s = \pm 39,5$ mval/l, $n = 100$)

t	Leukozyten pro mm ³ $\bar{x}$	s	Korrelations- koeffizient r	Signi- fikanz	Regressions- koeffizient a	b
I. Nativurin A _Z bei Zimmertemperatur						
0	545	± 1062	-0,24	+	962,61	-6,56
1	436	± 816	-0,24	+	755,27	-5,00
2	381	± 706	-0,23	+	645,44	-4,15
4	309	± 558	-0,24	+	526,05	-3,41
8	265	± 496	-0,23	+	450,68	-2,92
II. Nativurin A ₄ bei 4° C						
0	545	± 1062	-0,24	+	962,61	-6,56
1	492	± 1016	-0,23	+	861,28	-5,80
2	430	± 846	-0,21	+	722,60	-4,59
4	370	± 682	-0,22	+	610,32	-3,77
8	300	± 539	-0,22	+	488,90	-2,97
III. gepuffertter Urin B _Z bei Zimmertemperatur						
0	619	± 1227	-0,23	+	1080,41	-7,25
1	558	± 1106	-0,24	+	988,77	-6,76
2	500	± 898	-0,26	++	837,75	-5,86
4	445	± 807	-0,27	++	793,67	-5,47
8	374	± 616	-0,29	++	656,53	-4,44
IV. gepuffertter Urin B ₄ bei 4° C						
0	619	± 1227	-0,23	+	1080,41	-7,25
1	579	± 1095	-0,25	+	1018,12	-6,89
2	540	± 988	-0,25	+	937,92	-6,24
4	477	± 835	-0,26	++	825,20	-5,46
8	408	± 674	-0,26	++	697,07	-4,47

Tabelle 44 : Beziehung zwischen Calcium und Leukozytenkonzentration in Nativurin und gepuffertem Urin bei Zimmertemperatur und 4° C.

(Calcium: $\bar{x} = 7,7$ mg%, $s = \pm 5,4$ mg%, $n = 100$)

t	Leukozyten pro mm ³ $\bar{x}$ s	Korrelations- koeffizient r	Signi- fikanz	Regressions- koeffizient a b	
I. Nativurin A _Z bei Zim ertemperatur					
0	545 ±1062	-0,16	-	786,82 -31,54	
1	456 ± 816	-0,15	-	590,43 -20,07	
2	381 ± 706	-0,12	-	502,88 -15,89	
4	309 ± 558	-0,11	-	393,16 -11,03	
8	265 ± 496	-0,09	-	326,27 - 8,03	
II. Nativurin A ₄ bei 4° C					
0	545 ±1062	-0,16	-	786,82 -31,54	
1	492 ±1016	-0,14	-	693,77 -26,30	
2	450 ± 846	-0,14	-	591,91 -21,09	
4	370 ± 682	-0,13	-	498,30 -16,73	
8	300 ± 559	-0,11	-	385,28 -11,15	
III.gepuffertter Urin B _Z bei Zimmertemperatur					
0	619 ±1227	-0,17	-	908,32 -37,74	
1	558 ±1106	-0,17	-	817,42 -33,76	
2	500 ± 898	-0,18	-	722,29 -28,94	
4	445 ± 807	-0,18	-	651,43 -26,87	
8	374 ± 616	-0,16	-	513,88 -18,29	
IV. gepuffertter Urin B ₄ bei 4° C					
0	619 ±1227	-0,17	-	908,32 -37,74	
1	579 ±1095	-0,16	-	829,23 -32,58	
2	540 ± 988	-0,16	-	765,11 -29,28	
4	477 ± 855	-0,16	-	676,41 -25,98	
8	408 ± 674	-0,16	-	564,05 -19,84	

Tabelle 45: Beziehung zwischen Chlorid und Leukozytenkonzentration in Nativurin und gepuffertem Urin bei Zimmertemperatur und 4° C.

(Chlorid: $\bar{x}$ = 151,5 mval/l, s = $\pm$ 70,1 mval/l, n = 95)

t	Leukozyten pro mm ³	Korrelations- koeffizient r	Signi- fikanz	Regressions- koeffizient a	Regressions- koeffizient b
	$\bar{x}$ s				
I. Nativurin A_Z bei Zimmertemperatur					
0	545 $\pm$ 1062	-0,03	-	553,69	-0,36
1	436 $\pm$ 816	-0,01	-	415,87	-0,14
2	381 $\pm$ 706	-0,04	-	401,35	-0,38
4	309 $\pm$ 558	-0,02	-	291,90	-0,11
8	265 $\pm$ 496	-0,01	-	228,69	-0,07
II. Nativurin A₄ bei 4° C					
0	545 $\pm$ 1062	-0,03	-	553,69	-0,36
1	492 $\pm$ 1016	-0,02	-	475,19	-0,22
2	430 $\pm$ 846	-0,03	-	441,63	-0,32
4	370 $\pm$ 682	+0,04	-	298,50	+0,33
8	300 $\pm$ 539	+0,07	-	218,89	+0,42
III. gepuffertter Urin B_Z bei Zimmertemperatur					
0	619 $\pm$ 1227	-0,05	-	688,82	-0,79
1	558 $\pm$ 1106	-0,04	-	607,00	-0,62
2	500 $\pm$ 898	-0,02	-	498,50	-0,21
4	445 $\pm$ 807	-0,003	-	415,40	-0,02
8	374 $\pm$ 616	-0,03	-	318,59	-0,20
IV. gepuffertter Urin B₄ bei 4° C					
0	619 $\pm$ 1227	-0,05	-	688,82	-0,79
1	579 $\pm$ 1095	-0,01	-	560,16	-0,16
2	540 $\pm$ 988	-0,02	-	530,86	-0,20
4	477 $\pm$ 835	+0,03	-	402,03	+0,31
8	408 $\pm$ 674	+0,02	-	363,50	+0,16

Tabelle 46: Beziehung zwischen anorganischem Phosphat und Leukozytenkonzentration in Nativurin und gepuffertem Urin bei Zimmertemperatur und 4° C.

(anorg.Phosphat: $\bar{x}$ = 09,9 mg%, s = $\pm$ 74,2 mg%, n = 100)

t	Leukozyten pro mm ³	Korrelations- koeffizient	Signi- fikanz	Regressions- koeffizient
	$\bar{x}$ s	r		a b
I. Nativurin A _Z bei Zimmertemperatur				
0	545 ±1062	-0,13	-	713,87 -1,88
1	426 ± 816	-0,12	-	555,57 -1,33
2	381 ± 706	-0,10	-	463,47 -0,92
4	309 ± 558	-0,12	-	390,03 -0,91
8	265 ± 496	-0,10	-	326,29 -0,69
II. Nativurin A ₄ bei 4° C				
0	545 ±1062	-0,13	-	713,87 -1,88
1	492 ±1016	-0,11	-	622,48 -1,45
2	430 ± 846	-0,08	-	515,99 -0,96
4	370 ± 682	-0,13	-	478,75 -1,21
8	300 ± 539	-0,12	-	379,25 -0,89
III. gepuffertter Urin B _Z bei Zimmertemperatur				
0	619 ±1227	-0,10	-	760,51 -1,58
1	558 ±1106	-0,10	-	686,80 -1,43
2	500 ± 898	-0,12	-	626,67 -1,41
4	445 ± 807	-0,13	-	574,83 -1,44
8	374 ± 616	-0,14	-	476,69 -1,15
IV. gepuffertter Urin B ₄ bei 4° C				
0	619 ±1227	-0,10	-	760,51 -1,58
1	579 ±1095	-0,11	-	730,25 -1,68
2	540 ± 988	-0,11	-	676,50 -1,52
4	477 ± 835	-0,15	-	628,73 -1,69
8	408 ± 674	-0,13	-	520,70 -1,23

D I S K U S S I O N

Wie die Abbildungen 1 - 6 zeigen, vermindert sich im Nativharn, der bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird, nach und nach die Zahl der Leukozyten pro mm^3 . Schon nach Ablauf einer Stunde kann der Verlust so erheblich sein, daß der Unterschied zwischen Ausgangs- und Einstunden-Wert statistisch signifikant ist (Tab. 2, 10, 26).

Vergingen 4 Stunden bis zur Untersuchung der Probe, so war in allen Gruppen (s.o.) eine Verringerung der Leukozytenkonzentration um mindestens 25% eingetreten; in der Gruppe ">500" bei Urin mit ansteigendem pH sogar eine solche um 63%; in den nächsten 4 Stunden reduzierte sich die Leukozytenzahl pro Volumeneinheit weiter.

Die Abhängigkeit der Leukozytenstabilität vom Milieu des Urins, insbesondere von dessen pH-Wert, ist von mehreren Autoren untersucht und beschrieben worden (12, 28, 42). In der vorliegenden Untersuchung kommt diese Abhängigkeit nicht so evident zum Ausdruck wie z.B. in den Experimenten von TRIGER u. SMITH (42). Dies beruht darauf, daß in den hier untersuchten (Nativ!) Urinproben mehrere Faktoren gleichzeitig (und bei jeder einzelnen Probe quantitativ unterschiedlich) relevant waren, während TRIGER u. SMITH im Experiment jeweils nur eine Meßgröße unter Konstanthaltung der anderen veränderten. Die Mehrzahl der in unserer Arbeit geprüften Urinproben hatte primär eine saure Reaktion; von den 100 Nativurinen zeigte nur $\frac{1}{3}$ eine spontane Alkalisierung innerhalb der Zeitspanne der Beobachtung.

Gleichwohl erkennt man auch hier eine Änderung der Leukozytenzahl pro mm^3 in Abhängigkeit vom pH, am deutlichsten in den in Abb. 3 und Abb. 6 dargestellten Gruppen ">500" mit bleibendem bzw. steigendem pH.

In der letztgenannten Gruppe, in der der Urin im Mittel gering sauer war, wurde die Urinreaktion in relativ kurzer Zeit alkalisch; analog hierzu kam es zum auffallend raschen Leukozytenabfall (Tab.26). In einigen Proben dieser Gruppe konnte die Zerstörung der Leukozyten unter dem Mikroskop verfolgt werden. Die Zellen - einschließlich der Kerne - zeigten ein "geschwollenes" Aussehen, ihre Zellmembran verlor die scharfe Konturierung; schließlich blieben nur noch visköse, amorphe Aggregate zurück, in welche eingebettet die morphologisch noch intakten Leukozyten zu erkennen waren. Die Osmolarität war in diesen wenigen Proben sehr niedrig, was nach TRIGER u. SMITH (42) ebenfalls den Leukozytenzerfall beschleunigt, während im Mittel die Osmolarität auch in dieser genannten Gruppe wie in allen anderen fünf Gruppen nicht unter 400 mosmol/l (Tab.26) lag.

In beiden Gruppen ">500", deren hohe Leukozytenzahlen ja der Ausdruck eines stark infizierten Urins sind, fand sich in den Urinproben, von denen eine bakteriologische Untersuchung durchgeführt wurde, *B. proteus* als häufigster Erreger; in allen Fällen mit einer Keimzahl von $>10^5$ /ml (Tab.38). Es ist bekannt, daß dieser Keim auf Grund seiner Fähigkeit, Harnstoff mit Hilfe von Urease in Ammoniak und CO_2 zu spalten, eine Zunahme der Alkalität des Urins bewirkt (12). Wahrscheinlich ist der deutliche Anstieg des Urin-pH insbesondere in der Gruppe ">500" (mit steigendem pH) auf die Infektion vorwiegend mit *B. proteus* zurückzuführen, jedoch ist wegen der geringen Zahl der Urine, die zur bakteriologischen Keimdifferenzierung kamen, hierzu eine eindeutige Aussage nicht möglich. Auch auf eine Korrelationsberechnung mußte aus den oben genannten Gründen verzichtet werden. Von dem insgesamt in gleicher Häufigkeit gefundenen Keim *E. coli* (Tab. 38)

ist eine Änderung des Urin-pH-Wertes nicht bekannt.

In der Praxis mag es als nicht relevant erscheinen, ob - wie etwa in der Gruppe mit niedriger Zellzahl - 49 Zellen oder - eine Stunde später - 45 Zellen pro mm^3 angetroffen werden. Es ist jedoch zu bedenken, daß in bestimmten Fällen, gerade in mit *Proteus* infizierten Urinen, jedenfalls nach der 2. Stunde, ein rasches Absinken der ursprünglichen Zellzahl eintreten kann, was dazu führen kann, das eine untersuchte Harnprobe als normal beurteilt wird, obwohl anfänglich als Symptom einer Harnwegsinfektion eine pathologische Leukozyturie vorlag.

TRIGGER u. SMITH fanden in ihren Experimenten eine nur geringe Veränderung der Leukozytenzahl über viele Stunden in Lösungen mit niedrigem pH und solchen mit hoher Osmolarität (42). Von der Säuerung des Nativurins durch Pufferung mit einer stark sauren Lösung, die gleichzeitig ein Ansteigen des pH über viele Stunden verhindert und die Osmolarität anhebt, konnte somit eine wesentliche Verbesserung der Stabilität der Leukozyten erwartet werden.

Im Nativurin läßt sich ein Zusammenhang zwischen Osmolarität und pH-Wert einerseits und Leukozytenzahl (in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt) andererseits nachweisen (Tab. 34, 35). Dabei korreliert die Leukozytenzahl pro Volumeneinheit enger mit der Osmolarität als mit der Wasserstoffionenkonzentration. Die Beziehung wird zu späteren Untersuchungszeitpunkten etwas deutlicher, jedoch besteht kein sehr enger Zusammenhang.

In den in unserer Arbeit untersuchten Urinproben tritt auch bei stark angehobener Osmolarität ein Leukozytenverlust ein (negativer Korrelationskoeffizient). Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den von TRIGER u. SMITH (42) gemachten Beobachtungen, wonach im Experiment unter sonst gleichbleibenden Bedingungen hohe Osmolaritäten eine Abnahme der Leukozytenzahl verhindern. Auch hier ist darauf hinzuweisen, daß wegen der unterschiedlichen Ausgangslage (Nativurine!) ein direkter Vergleich nur mit großer Vorsicht gezogen werden kann.

Durch die Pufferung des Urins mit dem modifizierten Zitratpuffer nach SØRENSEN (6) wurde das pH in den einzelnen Gruppen auf 3,9 - 4,6 im Mittel erniedrigt (Tab. 3, 5, 7, 9, 11, 13; 19, 21, 23, 25, 27, 29), für alle Proben auf durchschnittlich 4,1 (Tab. 36, 37). Die Osmolarität erhöhte sich durch Zusatz von Pufferlösung beträchtlich auf im Durchschnitt 1203-1308 mosmol/l in den einzelnen Gruppen, für alle 100 Proben im Mittel auf 1275 mosmol/l (Tab. 36, 37).

Die Abb. 1 - 6 zeigen, in welcher Weise eine Beeinflussung der Leukozytenpersistenz durch die Pufferung des Urins erfolgt (B_Z). Auch bei diesen niedrigen pH- und hohen Osmolaritätswerten kommt es zu einer Abnahme der Leukozytenzahl pro mm^3 , die von der 4. Beobachtungsstunde an zu gegenüber dem Ausgangswert statistisch signifikanten Unterschieden in der Höhe der Leukozytenkonzentration führt. Daß im gepufferten Urin zwischen Leukozytenkonzentration und Osmolarität bzw. Wasserstoffionenkonzentration statistisch kein funktionaler Zusammenhang gesichert werden kann (Tab. 36, 37), weist darauf hin, daß der Leukozytenabfall im gepufferten

Urin nicht so sehr durch die beiden genannten Parameter als vielmehr durch eine oder mehrere andere Größen bedingt wird, z.B. durch die Temperatur (s.u.). Eine gewisse Rolle scheint dabei der Kaliumgehalt des Urins zu spielen.

Während zwischen der Leukozytenkonzentration und den Harnkonstituenten Harnstoff, Kreatinin, Natrium, Calcium, Chlorid und Phosphat statistisch keine Korrelation besteht, läßt sich im gepufferten Urin ein Zusammenhang zwischen Kaliumgehalt (des Nativurins) und Leukozytenkonzentration zu den späten Untersuchungszeitpunkten sichern (Tab. 43),

Insgesamt erkennt man, daß die Diagramme des gepufferten Urins B_Z auf einem höheren Niveau verlaufen als die des Nativurins A_Z , d.h. der Zellschwund ist verlangsamt. Am stärksten zeigt sich dies in den Gruppen mit mehr als 500 Zellen/mm³.

Die Stabilität der weißen Zellen im Urin scheint also durch die Säuerung des Urins erhöht zu werden. Das Ausmaß der Stabilisierung durch die verwendete Zitratpufferlösung reicht jedoch nicht aus, um in der Praxis mittels dieser Methode der Pufferung den limitierenden Zeitfaktor zwischen Entleerung und Untersuchung des Urins auszuschalten.

In 24 Fällen der 100 Proben kam es nach Zugabe der Zitratpufferlösung zu einer Schrumpfung der Zellmembran der Leukozyten, die die Identifizierung eines Formelementes als weiße Blutzelle erschwerte und eine zusätzlich zum methodischen Fehler hinzukommende Fehlerquelle bedeutete. Aus den Untersuchungsergebnissen von Osmolarität, Elektrolyten, Harnstoff und Kreatinin dieser 24 Proben ist nicht zu ersehen, worauf die Schrumpfung der Zelle zurückzuführen war.

Betrachtet man die Ergebnisse der Proben, die gekühlt wurden - die Nativurin-Reihe A₄ und die gepufferte Reihe B₄ -, so erkennt man, daß - entgegen einer verbreiteten Ansicht - auch die Kühlung des Urins keine brauchbare Alternative zu einer frühzeitigen Untersuchung bietet.

In der Gruppe ">500" mit konstantem pH sowie in den Gruppen "1 - 100" und "101 - 500" bei steigendem pH bringt die Erniedrigung der Temperatur des Nativharns gegenüber den Ergebnissen im Nativurin von Zimmertemperatur keine Verbesserung (Abb. 3, 4, 5); dagegen läßt sich in den übrigen Gruppen eine Verlangsamung des Leukozytenabfalls im Vergleich zum Nativurin bei Raumtemperatur feststellen (Abb. 1, 2, 6).

Sie wirkt sich in den letztgenannten Gruppen vorwiegend in den ersten beiden Untersuchungsstunden aus; in diesen Gruppen macht sich der Aufschub der Degeneration der Leukozyten deutlicher bemerkbar als bei Erniedrigung des pH-Wertes und Erhöhung der Osmolarität (Reihe B₂).

Dies wird unterstrichen durch die Tatsache, daß im gepufferten Urin, in dem eine Erniedrigung des pH-Wertes und eine Erhöhung der Osmolarität vorgenommen wurde, statistisch ein funktioneller Zusammenhang zwischen Leukozytenkonzentration einerseits und Osmolarität sowie Wasserstoffionenkonzentration andererseits weder bei Zimmertemperatur noch bei Kühlung auf 4° C zu sichern war (Tab. 36, 37).

Die Erhöhung der Stabilität der Leukozyten im gekühlten Urin ist am ehesten darauf zurückzuführen, daß durch Erniedrigung der Temperatur das Wachstum bzw. die Vermehrung von Bakterien verhindert wird, die infolge Ureaseproduktion in der Lage sind, durch Spaltung von Harnstoff in NH₃ und CO₂ die Reaktion

des Urins nach der alkalischen Seite hin zu verändern. Dementsprechend sieht man auch in der Klasse II, also den Fällen mit steigendem pH, im gekühlten Nativurin A₄ einen langsameren Anstieg des pH als im Nativurin A₂ von Zimmertemperatur. (Tab. 20, 24, 28).

Am günstigsten insgesamt liegt die Persistenz der Leukozyten in dem Urin, in dem sowohl die Temperatur und das pH erniedrigt als auch die Osmolarität erhöht wurden (B₄). Allerdings sind auch hier die Einflüsse der niedrigen Temperatur und der Pufferlösung nicht so stark, daß sie länger als 4 Stunden die Degeneration der weißen Zellen im Urin entscheidend verhindern könnten; ab der 4. Stunde kommt es in den Gruppen "1 - 100" und ">500" der Fälle mit steigendem pH-Wert zu einem statistisch signifikanten Abfall der Zellzahl, während dieser in den beiden übrigen Gruppen ("101 - 500" bei bleibendem und "1 - 100" bei steigendem pH) zwar nicht statistisch signifikant, aber immerhin "statistisch auffällig" ist.

Darüber hinaus ist das Ausmaß des Leukozytenverlustes zwischen den einzelnen Proben auch einer mehr oder weniger homogenen "Gruppe" sehr variabel, also nicht prospektiv abschätzbar - oder umgekehrt: auch bei Kenntnis der seit der Uringewinnung verflossenen Zeit und der verschiedenen anderen hier berücksichtigten Daten kann nicht von der aktuellen auf die ursprüngliche Leukozytenkonzentration "zurückgerechnet" werden.

Mit der in den vorliegenden Untersuchungen angewandten Methode der Pufferung des Urins mittels der modifizierten Zitratpufferlösung nach SØRENSEN und/oder Kühlung des Urins gelingt es also nicht, die Degeneration weißer Blutzellen im Urin so entscheidend zu verlangsamen, daß eine Bestimmung der Zellzahl mehrere Stunden nach der Miktion noch ein zuverlässiges Ergebnis

bringen konnte. Die Forderung, Urin kurz nach der Gewinnung auf seinen Zellgehalt zu untersuchen, will man eine mit dem Befund am "Blasenurin" übereinstimmende Aussage machen, muß weiterhin aufrecht erhalten werden.

Die Problematik einer (quantitativen) Messung der Leukozyturie durch Analyse von Sammelurin ("Addis-count") liegt in Anbetracht der hier mitgeteilten Resultate auf der Hand. Allerdings ist die Frage noch offen, ob "Harnsammlung" in der Blase oder - nach Miktion - im Gefäß zu quantitativ wesentlich verschiedenen Ergebnissen führt.

Vorerst darf davon ausgegangen werden, daß die beste Korrelation zwischen entzündlich bedingter Leukozytenschwemmung in den Harn und labortechnischer Leukozytenkontrolle dann zu erwarten ist, wenn möglichst kurzfristig nach einer vorangegangenen Blasenentleerung neuerlich Urin gewonnen, zur Prüfung herangezogen und frisch untersucht wird.

Unberührt von diesen Überlegungen bleibt selbstverständlich, inwiefern die so "optimal" ermittelte Leukozytenkonzentration die Intensität entzündlicher Prozesse im Harnsystem generell und individuell überhaupt reflektiert.

ZUSAMMENFASSUNG

In 100 Proben von

1. bei **Zimmertemperatur** gelagertem Nativurin,
2. bei 4° C gelagertem Nativurin,
3. bei Zimmertemperatur gelagertem mit modifizierter Zitratlösung nach SØRENSEN im Verhältnis 1:1 gepuffertem Urin sowie
4. bei 4° C gelagertem mit modifizierter Zitratlösung nach SØRENSEN im Verhältnis 1:1 gepuffertem Urin

wurden sofort (= 0), 1, 2, 4 und 8 Stunden nach Urin-gewinnung vergleichende quantitative Leukozytenzählungen in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer sowie ~~pH~~-Bestimmungen durchgeführt.

In den 100 Nativurinen sowie in den korrespondierenden gepufferten Urinen wurde die Osmolarität bestimmt. Im nativen Ausgangsurin wurden zudem der Gehalt an Harnstoff (100), Kreatinin (100), Natrium (96), Kalium (100), Calcium (100), Chlorid (95), anorganischem Phosphat (100) quantitativ sowie Eiweiß und Glucose qualitativ ermittelt. 35 Nativharne wurden einer quantitativen und qualitativen bakteriologischen Untersuchung zugeführt.

Bei der statistischen Auswertung fanden sich im wesentlichen folgende Ergebnisse:

1. Im Nativurin kommt es bei längerem Stehen sowohl bei konstant bleibendem als auch bei ansteigendem pH-Wert zu einem Abfall der Leukozytenzahl pro mm³, der spätestens nach 4 Stunden zu einem statistisch signifikanten Unterschied gegenüber dem Ausgangsbefund führen und damit ein exakt verwertbares Ergebnis unmöglich machen kann.

- 2.a) Kühlung des Urins,
 - b) Erniedrigung des pH-Wertes und Erhöhung der Osmolarität sowie
 - c) gleichzeitig einwirkende Kühlung, pH-Erniedrigung und Osmolaritätserhöhung des Urins vermögen den Leukozytenschwund zwar zu verlangsamen, aber nicht entscheidend aufzuhalten.
3. Die quantitative zytologische Untersuchung sollte möglichst am frischen Urin, spätestens vor Ablauf von zwei Stunden nach der Blasenentleerung , durchgeführt werden.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ADDIS, T.: The number of formed elements in the urinary sediment of normal individuals. J. clinical Investigation 2, (1926), 409 - 417
2. BROD, J.: Chronische Pyelonephritis. In: Das med. Prisma 3/70, Hrsg. C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim
3. BRUMFITT, W.: Urinary cell counts and their value. J. clin. Path. 18, (1965), 550 - 555
4. CAVALLI-SFORZA, L.: Biometrie. Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik. 2. Aufl. Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1969
5. DISTEL, L.: Grundsätze zur Diagnostik von Harnwegsinfektionen bei Kindern. Therapiewoche 17 (1967) 31, 1080 - 1083
6. DOCUMENTA GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen
7. Aufl. Basel 1968
7. FROHMÜLLER, H.: Die Pyelonephritis aus der Sicht des Urologen. Münchn. med. Wschr. 110, 40, 2249 - 2258, (1968)
8. FUCHS, T.: Pyelonephritis. Diagnostik und Therapie. Studienreihe Boehringer Mannheim 1. Aufl., 1969
9. GADEHOIT, H.: Counting of cells in urine (The variability of haemozytometer counts). Acta med. scand. 183, (1968), 9 - 16
10. GEKLE, D. und FISCHER, V.: Kritische Aspekte zur Pyelonephritis im Kindesalter. Münchn. med. Wschr. 26, (1967), 1397

11. GLOOR, F.: Morphologie und Pathogenese der Pyelonephritis. In: Therapeutische Berichte 2/67, Hrsg. Bayer, Leverkusen
12. GNARFE, H. and EDEBO, L.: The Stability of Leukocytes in Urine Infected with Proteus. Acta path. et microbiol. scandinavia 65, (1965), 295 - 302
13. GRAY, C. H.: Klinische Biochemie. Georg Thieme Stuttgart 1970
14. HUBMANN, R.: Klinik und Differentialdiagnose der Pyelonephritis - Fortschritte und Ausblicke. In: Therapeut. Berichte 2/67 Bayer Leverkusen 1967
15. KELLER, W. und WISKOTT, A.: Lehrbuch der Kinderheilkunde. 2. Aufl. Thieme Stuttgart 1966
16. KERP, L., MERKER, H. und FREY, J.: Über Methodik und diagnostischen Wert eines Zählverfahrens für geformte Harnbestandteile. Klin. Wschr. 34, (1956), 1147
17. KIENITZ, M.: Bakteriologische Grundlagen. In: Die Pyelonephritis, hrsg. von H. Losse und M. Kienitz, Thieme Stuttgart 1966, 33
18. KLINISCHES LABOR, Medizinisch-chemische Untersuchungsmethoden. 11. Aufl. Darmstadt 1970. Hrsg. E. Merck, Darmstadt
19. KRECKE, H. - J. und SCHÜTTERLE, G.: Quantitative Untersuchungen zur Frage der Ausscheidung von Erythrozyten und Leukozyten im normalen Urin. Dtsch. Archiv Klin. Med. 207, (1961), 118 - 139
20. LAMPEN, H.: Laboratoriumsuntersuchungen. Spezielle Diagnostik der PN. In: Die Pyelonephritis, hrsg. von Losse, H. und Kienitz, M., Thieme Stuttgart 1966, 94

21. LINNEWEH, F.: Zur Klinik der Harnwegsinfektionen.
I. Wesen und Bedeutung der Harnwegs-
infektionen. Dtsch. med. Wschr. 11,
(1957), 369 - 372
22. LINNEWEH, F.: Zur Klinik der Harnwegsinfektionen.
II. Neuere Kriterien zur Diagnostik der
Harnwegsentzündungen.
Dtsch. med. Wschr. 13, (1957), 438
23. LINNEWEH, F. und JARAUSCH, K.-H.: Erkrankungen der
Harnwege. In: Handbuch d. Kinderheilk.
1966, S. 1196
24. LINZENMEIER, G.: Mikrobiologische Harnanalyse -
Grundlage einer gezielten antibakteriellen
Therapie der Pyelonephritis. In: Thera-
peutische Berichte 2/67, 91
Bayer Leverkusen 1967
25. LITTLE, P. J.: Urinary white-cell excretion.
The Lancet 1, (1962), 1149
26. LITTLE, P. J.: The examination of urine.
Amer. Heart J. 68, (1964), 715
27. LÜDERS, D.: Bakteriologische Diagnostik. In: Die
Pyelonephritis, hrsg. von Losse, H. und
Kienitz, M., Thieme Stuttgart 1966, 97
28. McINTYRE, M. and MOU, Th. W.: Persistence of leuco-
cytes and erythrocytes in refrigerated acid
and alkaline urine. Amer. J. clin.
Path. 43, (1965), 53
29. NIETH, H.: Diagnostische Möglichkeiten der Praxis
und die moderne klinisch-diagnostische
Methodik bei der Pyelonephritis. Regensb.
Ärztl. Fortb. 14, (1966), 5, 262 - 268
30. OLBING, H.: Praktische Probleme bei der Pyelonephritis
des Kindes. In: Therapeut. Berichte 2/67
Hrsg. Bayer Leverkusen 1967

31. PFANZAGL, J.: Allgemeine Methodenlehre der Statistik I.
Sammlung Götschen Bd. 746/746a Berlin 1967
32. PFANZAGL, J.: Allgemeine Methodenlehre der Statistik
II. Sammlung Götschen Bd. 747/747a Berlin
1968
33. ROHWEDDER, H.-J.: Prädisponierende Faktoren (Ätiologie
und Pathogenese der Pyelonephritis). In:
Die Pyelonephritis, hrsg. von Losse, H.
und Kienitz, M., Thieme Stuttgart 1966, 1
34. RUPP, W.: Kritik der cytologischen Harndiagnostik.
Arztl. Wschr. 14, (1959), 113 - 117
35. RUPP, W.: Über die Leukozyten- und Keimausscheidung
im Urin gesunder Kinder bei der Anwendung
quantitativer Methoden.
Arztl. Wschr. 14, (1959), 132 - 134
36. RUPP, W.: Quantitative Untersuchungen der Leuko-
zyten- und Keimausscheidung im Urin bei
akuter und chronischer Pyelonephritis im
Kindesalter.
Arztl. Wschr. 14, (1959), 135 - 138
37. SCHIRMEISTER, J., WILLMANN, H. und KIEFER, H.:
Endogenes Kreatinin in Serum und Harn.
Klin. Wschr. 41, (1963), 878 - 882
38. SMITH, D. R.: Allgemeine Urologie. Urban u. Schwar-
zenberg München-Berlin-Wien 1968
39. STANSFELD, J. M. and WEBB, J. K. G.: Observations
on pyuria in children. Arch. dis. childh.
28, (1953), 386 - 391
40. STANSFELD, J. M.: The Measurement and Meaning of
Pyuria. Arch. dis. childh. 37, (1962),
257 - 262

41. TEST-FIBEL "Harnstoff". Klinik und Labor. Biochemica.
4. Aufl. 1969, Hrsg. Boehringer + Söhne
Mannheim
42. TRIGER, D. R. and SMITH, J. W. G.: Survival of
urinary leucocytes. Journal of Clinic.
Pathology 19, (1966), 443
43. UBERLA, K.: Faktorenanalyse. Verlag Springer, Berlin,
Heidelberg, New York 1968
44. WOLFF, H. P.: Diagnose und Therapie der chronischen
Pyelonephritis. Wiener med. Wschr. 117,
16, (1967), 433 - 438
45. ZAPP, E.: Urologie des Kindesalters. Ferd. Enke
Verlag Stuttgart 1967, Beihefte zum
Arch. f. Kinderh. 55. Heft

LEBENS LAUF

Am 26.8.1939 wurde ich als Tochter des Ministerialrates Dr. Walter Grafe und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Pfullmann, in Hamburg geboren. Das Vorschulalter verlebte ich in Hamburg, Saarbrücken, Lauban/Schlesien, Radonitz/CSSR und Döllstadt/Thüringen.

Ab Herbst 1946 besuchte ich in Döllstadt, Düsseldorf und Radevormwald/Rhld. die Grundschule, ab Frühjahr 1950 die Realschule in Radevormwald. Im Herbst 1950 wurde ich Schülerin der Staatlichen Hildegardisschule in Köln. Von 1954 bis 1959 besuchte ich die Städtische Luisenschule in Düsseldorf, dort legte ich 1959 am mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1959 studierte ich Mathematik und Physik an der Universität zu Köln; im Wintersemester 1959/60 begann ich dort das Studium der Medizin und bestand im Frühjahr 1962 die ärztliche Vorprüfung.

Die klinischen Semester studierte ich an den Universitäten Freiburg i.Br. und Düsseldorf, wo ich - nach eineinhalbjähriger Unterbrechung wegen Krankheit - im Frühjahr 1967 das Studium mit dem Staatsexamen abschloß.

Die zweijährige Medizinalassistentenzeit leistete ich an der Universität Düsseldorf (HNO - sowie Kinderklinik), an der Frauenklinik des Diakoniewerkes Kaiserswerth in Düsseldorf sowie am Stadtkrankenhaus Rüsselsheim ab.

Seit dem 1.9.1969 bin ich als Assistentin an der Universitätskinderklinik in Mainz tätig.

Seit 1969 bin ich verheiratet mit dem Studienrat und grafischen Ingenieur Harry Rudolf John, 1970 wurde unsere Tochter Annette geboren.

